

Thèse

présentée en vue de
l'obtention du titre de

Docteur
de
l'Université de Provence
délivré par
l'Université d'Aix-Marseille I

Spécialité : Neurosciences

Flexibilité fonctionnelle des cellules de lieu et mémoire spatiale :

Etude des mécanismes d'adaptation et des aspects moléculaires

par

Sophie RENAUDINEAU

Soutenue le 24/07/2008 devant la commission d'examen composée de :

Dr. Yoon CHO	Université de Bordeaux I	Rapporteur
Pr. Jean-Michel LASSALLE	Université de Toulouse III	Rapporteur
Pr. Robert JAFFARD	Université de Bordeaux I	Examineur
Dr. Laure RONDIREIG	Université de Paris VII	Examineur
Dr. Etienne SAVE	Université d'Aix Marseille I	Directeur de thèse
Pr. François ROMAN	Université d'Aix Marseille I	Président

Remerciements



J'adresse tout d'abord mes remerciements les plus sincères à tous les membres du jury qui ont accepté d'examiner ce travail.

Etienne, je ne sais pas comment te remercier. Cette thèse, je te la dois. C'est grâce à toi que je l'ai commencée, que je l'ai menée et que je l'ai finie. Je pense qu'on peut difficilement trouver un meilleur tuteur de recherche, car ton esprit scientifique et ta sagacité n'ont d'égal que tes nombreuses qualités humaines comme ta disponibilité, ta générosité et surtout ton humour. Partager ces années avec toi a été un véritable plaisir. Tu as su m'orienter, me soutenir, m'accompagner dans mes décisions les plus farfelues sans jamais me juger, et aussi me canaliser (entre autre dans mon style journalistique type « science et vie », et c'est tant mieux...) pour faire aujourd'hui ce que je suis, une apprentie chercheuse prête à partir vers de nouveaux horizons scientifiques, les bagages bien remplis.

Bruno, merci pour ton soutien et tes bons conseils. La recherche avec toi paraît si simple. Quand on entre dans ton bureau les idées confuses, pleines de contradictions, on en ressort avec autant de convictions : et c'est ça aussi la recherche, savoir être convaincu de ses idées pour convaincre.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Hans-Peter Lipp et à Giacomo Dell'Omo qui m'ont permis de poser mon premier pas sur le chemin de la cognition spatiale et m'ont mis la tête dans les nuages avec leur rêve d'enregistrements des signaux du cerveau de pigeons voyageurs en vol. Le rêve se concrétise peu à peu avec Alexei et son neurologger...

Felicia Ruperti, j'ai une pensée particulière pour toi. Misautra, tu m'as fait confiance en m'associant à ton projet de recherche d'aide à la conservation des lémuriens. Ce travail de recherche a représenté une des expériences les plus excitantes de ma vie. Je n'oublierai jamais notre petit lepilemur « patate » au fin fond de la forêt de l'inaccessible péninsule de Sahamalaza, notre partage de tente tête bêche, le goudou goudou, le riz lentille, le +10, Jean-Pierre notre capitaine, ainsi que nos débats sur l'écologie. Merci aussi de m'avoir fait réaliser à travers cette expérience mon intérêt profond pour les neurosciences...

Tiff et Vincent mes compagnons fidèles de thèse : je suis heureuse de l'avoir vécue avec vous. Tiff, c'était dur à la fin, mais un peu moins de le faire avec toi.

Béné merci pour les footing dans le « pâté » à 6h du mat, Cécile je n'oublierai pas que tu étais ma partenaire de choc de volley et de quiche, Louiche qui raffolait de mes quiches, Vincent ta finesse m'a beaucoup manquée à la fin, ma p'tite Alice la malice,

Tiffanai et ton humour subtil pas assez apprécié à sa juste valeur, Paul, champion toutes catégories des 3 p'tit Lu et d'adobe photoshop, je te dis un grand merci pour la patience dont tu as fait preuve pour répondre à mes « maniaqueries » sur les figures et le plus important, merci car sans toi je n'aurais jamais découvert l'illustre *Itoura Moussongo*, Stouf mon initiateur canyon préféré, et puis encore Marie, Laeti, Alex, Elisa, Vietminh, Fred, Virginie, Sylvie, Seb, Nat, Marianne, Christelle, Marion, Roula, Francesca (merci de m'avoir accueillie dans ton bureau dans les derniers moments et de m'avoir apportée un soutien pour mon moral et pour mon rachis...), Chloé, Clémence. Grâce à vous tous ma thèse a été une période très heureuse de ma vie. A cause de vous, je partirai le cœur gros.

Une de mes pensées va à Leam, ça y est, cette fois elle est réellement finie. Merci pour tes encouragements et les bavardages du RDC à Joseph Aiguier et du 3ème à St Charles.

Toute ma gratitude va à l'équipe qui a contribué à faire vivre ce microcosme, je pense en particulier à Dany, Rémy, Riri, et bien sûr Luciana. Merci d'avoir aussi fait régner une excellente ambiance.

Et bien sûr, à mes rats (molo, finé, ti'boisé, tatouille et à tous ceux à qui je n'ai plus donné de nom parce que c'était trop dur) et à mes souris qui m'ont offert une fenêtre sur leur « pensée ».

A mes amis qui ont toujours été là et qui seront toujours là, malgré l'éloignement géographique (Thibaut, Marie-Pierre un merci tout particulier pour avoir relu ma thèse entre deux dubble, c'était très courageux..., Fabien, Marinette, Mathieu, Lolo, Lolotte, Nico, Valérie, Gille, Anne-fouf, Chacha, Cyril, Florent et Isabelle).

Bien entendu je dédie ce travail à mes parents qui m'ont encouragée à toujours suivre mon instinct dans mes choix et c'est donc aussi grâce à eux et à leur amour que je suis là. Une tendre pensée va également à ma grande sœur Agnès.

Xavier merci d'être ce que tu es et d'être auprès de moi. Grâce à tes qualités de pragmatisme, de discernement, de recul de la situation, tu as toujours su m'éclairer. Tu m'as encouragée à réaliser mes rêves même si c'était souvent à tes dépens. Tu m'as témoignée à de maintes reprises ton amour, en bafouant tes plus profondes convictions anti-mariage, et en me montrant que tu étais prêt à me (ou les all blacks ?...) suivre jusqu'au bout du monde.

Je ne peux pas finir sans remercier les généreux donateurs de la Fondation pour la Recherche Médicale. Je souhaite sincèrement une longue vie à cette fondation car elle apporte un soutien financier à de nombreuses fins de thèses...

Table des matières

Avant propos.....	1
Introduction	5
I Partie introductive : la représentation de l'espace chez l'animal	9
La perception de l'espace	11
La diversité des comportements spatiaux.....	11
De la perception à la représentation	13
La piscine de Morris, une tâche de navigation basée sur la représentation spatiale allocentrée	14
Le rôle de l'exploration dans l'élaboration des représentations	15
Importance de la géométrie de l'espace	16
La connectivité de l'espace	16
II Les bases neurobiologiques et neurophysiologiques de la mémoire spatiale	19
1. Neuroanatomie de la mémoire spatiale	21
1.1. Introduction	21
1.2. La région hippocampique.....	22
1.2.1. Définition	22
1.2.2. La formation hippocampique	23
1.2.3. Région parahippocampique.....	28
1.2.4. Différences rat / souris concernant la région hippocampique.....	34
1.3. Autres régions corticales impliquées dans la mémoire spatiale.....	35
1.3.1. Cortex pariétal	35
1.3.2. Cortex préfrontal	36
2. Les bases cellulaires de la mémoire spatiale	39
2.1. Introduction	39
2.2. Cellules de lieu	42
2.2.1. Propriétés.....	42
2.2.2. Distribution et forme des champs d'activité	46
2.2.3. Contrôle sensoriel de l'activité des cellules de lieu	46
2.3. Cellules de direction de la tête	53

2.3.1. Propriétés et points communs avec les cellules de lieu.....	53
2.3.2. Contrôle sensoriel de l'activité des cellules de direction	56
2.3.3. Régions anatomiques qui possèdent des cellules de direction	58
2.4. Relations entre cellules de lieu et les cellules de direction	60
2.5. Cellules grille	61
2.5.1. Origines de la découverte.....	61
2.5.2. Propriétés.....	63
2.5.3. Influence des informations sensorielles sur l'activité des cellules grille ..	65
2.6. Autres cellules de la formation hippocampique : cellules du complexe subiculaire	68
2.6.1. Subiculum.....	68
2.6.2. Pré- et para-subiculum	70
2.7. Conclusion sur les cellules avec des corrélats spatiaux	71
2.8. L'hippocampe: mémoire de l'espace ou espace de mémoire ?	72
III Mémoire spatiale et flexibilité des cellules de lieu	79
3. Les mécanismes fondamentaux de la flexibilité de la représentation spatiale.....	81
3.1. « Remapping »	81
3.1.1. Description du phénomène.....	81
3.1.2. Les différents types de remapping décrits dans la littérature	84
3.2. Pattern separation/completion et adaptation des cellules de lieu aux modifications environnementales.....	86
3.2.1. Théorie des attracteurs	86
3.2.2. Différence CA1/CA3.....	91
3.2.3. Gyrus denté	94
3.2.4. Mémoire des représentations : importance d'un comparateur	95
3.3. Cellules grille et « remapping » hippocampique.....	96
3.4. Conclusion.....	97
4. Les mécanismes moléculaires de la flexibilité de la représentation spatiale.....	99
4.1. Cellules de lieu et plasticité synaptique	99
4.1.1. La potentialisation à long terme (PLT) à ses origines.....	99
4.1.2. La PLT, un modèle de plasticité impliqué dans les processus mnésiques	100
4.1.3. Y-a-t-il un lien entre la PLT et la mémoire spatiale?	106
4.2. Zif268 et mémoire	110
4.2.1. Qui est zif268 ?	110
4.2.2. Dysfonctionnement neuronal résultant de l'inactivation du gène zif268	112

4.2.3. Zif268 et la consolidation des souvenirs	114
4.2.4. Zif268 et la re-consolidation des souvenirs.....	117
4.3. Zif268 et cellules de lieu ?	121
IV Contribution expérimentale.....	123
5. Matériels et méthodes communs.....	127
5.1. Animaux	128
5.1.1. Rats.....	128
5.1.2. Souris.....	128
5.2. Fabrication des plots porte-électrodes.....	131
5.2.1. Rat	131
5.2.2. Souris : tétrodes	131
5.3. Entraînement pré-chirurgie	134
5.3.1. Rat	134
5.3.2. Souris.....	134
5.4. Chirurgie.....	134
5.4.1. Rat	134
5.4.2. Souris.....	135
5.5. Technique d'enregistrement.....	135
5.5.1. Pièce d'enregistrement	135
5.5.2. Enregistrement	136
5.6. Analyse des données	137
5.7. Caractéristiques numériques	138
5.8. Développement d'un nouveau système d'enregistrement de l'activité neuronale : le « neurologger ».....	139
6. Flexibilité des cellules de lieu dans l'utilisation des repères proximaux et distaux (article n°1).....	143
6.1. Introduction	145
6.2. Matériels et méthodes.....	146
6.2.1. Animaux	146
6.2.2. Dispositif expérimental	146
6.2.3. Méthodes d'enregistrement	147
6.2.4. Protocole expérimental.....	148
6.3. Analyse des données	149
6.4. Résultats	149
6.5. Discussion	157

7. Le gène immédiat précoce (IEG) zif268 est nécessaire à la stabilité à long terme des cellules de lieu de CA1 de l'hippocampe (article n°2).....	165
7.1. Introduction	166
7.2. Matériels et méthodes.....	167
7.2.1. Animaux	167
7.2.2. Dispositif expérimental et méthodes d'enregistrement.....	167
7.2.3. Protocole expérimental.....	168
7.3. Analyse des données	169
7.4. Résultats	169
7.5. Discussion	183
 8. Le gène zif268 est nécessaire à la re-consolidation de la représentation spatiale après réactivation de cette représentation (étude n°3)	189
8.1. Introduction	189
8.2. Matériels et méthodes.....	190
8.2.1. Animaux	190
8.2.2. Tâche et protocole expérimentaux	191
8.3. Analyse des données	193
8.4. Résultats	193
8.5. Discussion	195
 V Discussion générale.....	201
 Bibliographie.....	217
 Articles.....	247
 Annexes	

Avant-Propos

Je m'apprête à vous parler de la cognition spatiale, mais je ne peux résister d'abord à la tentation de vous raconter deux anecdotes qui ont déclenché au sein de mon circuit limbique des émotions suffisamment importantes pour les ancrer définitivement dans ma mémoire.

Un des grands défis (et devoirs) de la vie d'un chercheur est de réussir à décrire à son entourage simplement son travail, tout en suscitant l'intérêt et la curiosité. Cet exercice aussi difficile que passionnant, peut créer, par manque d'expérience, des situations parfois cocasses. Si j'aborde la conversation par 'je travaille sur la mémoire spatiale des rats'. Bien souvent, si la personne n'est pas versée dans le milieu, elle imagine l'espace intersidéral et doit probablement se questionner sur la difficulté d'envoyer des rats en apesanteur au cours d'une mission spatiale...(ce qui n'est finalement pas si insolite, quand on sait qu'une équipe de chercheurs (Knierim, 2000) a étudié la réponse des cellules de lieu de rats envoyés dans l'espace pour créer des conditions de microgravité).

Je raconte plus tard mon activité à une chercheuse exerçant dans le domaine de la biologie moléculaire « je m'intéresse à l'étude des cellules de lieu, j'étudie l'hippocampe... ». Interloquée, elle m'arrête immédiatement : « Mais je comprends pas, tu étudies le poisson ou l'hippocampe ? ». Je réalise amusée le quiproquo et ne peux que constater le gouffre qui sépare les biologistes travaillant dans des disciplines différentes.

Ou bien, peut-être ces anecdotes soulèvent-elles simplement la difficulté d'imaginer que des scientifiques puissent concentrer leur effort sur la question de l'espace, tant cette notion semble abstraite et difficile à définir? L'espace est en effet une réalité éclatante, qui paradoxalement s'appréhende difficilement. Il n'est donc pas trivial de le définir.

Le nombre d'articles ou de chapitres consacrés à l'espace est considérable: dans les grandes encyclopédies, on trouve « la conquête de l'espace », « espace et architecture », « espace et écologie », ou encore les aspects physiques, les hypothèses mathématiques, philosophiques et psychologiques... La multitude des spécialités ayant trait à l'espace montre que selon les personnes concernées, la conception de l'espace diffère. Ainsi, à mesure qu'on cherche à en cerner la nature, l'espace semble se multiplier, se fragmenter, et se résoudre en une multitude d'entités distinctes.

Considéré sous l'angle des sciences cognitives et des neurosciences, l'espace se définit comme l'environnement dans lequel les êtres vivants se déplacent pour survivre. L'étude des capacités des animaux à se mouvoir dans

l'espace a conduit certains auteurs à introduire la notion d'espace psychologique (O'Keefe & Nadel, 1978). Malgré une définition relativement simple (« *any space which is attributed to the mind...and which would not exist if minds did not exist [pp. 6-7]* »), les questions sur l'origine et la nature de cet espace ont été la source de divergences théoriques avec trois courants principaux de pensée : l'empirisme, le nativisme, et le constructivisme. La position empirique suppose que l'espace psychologique dérive directement des interactions de l'individu avec l'espace physique. A l'opposé, la conception nativiste propose que le développement de cet espace est génétiquement déterminé par l'intermédiaire de la mise en place de structures biologiques spécialisées dans la perception et le traitement de l'espace. Enfin, d'après la position constructiviste, les structures psychologiques permettant d'organiser l'expérience spatiale feraient l'objet d'une construction de novo à partir des interactions entre l'inné et l'acquis (Liben, 1981). En somme, ces trois positions énoncent la nature des facteurs externes ou internes à l'individu qui contraignent la formation de l'espace psychologique : le monde physique, l'équipement biologique de l'individu et l'expérience. L'espace physique s'appréhende via les récepteurs sensoriels dont est équipé l'individu. Mais la capacité à se représenter l'espace ne se limite pas à la perception de l'espace physique. La maturation de l'espace psychologique est longue et résulte du développement progressif des structures nerveuses, développement modulé par l'expérience.

L'étude des structures nerveuses impliquées dans le traitement des informations spatiales nous conduit à considérer une autre sorte d'espace : « l'espace des structures nerveuses ». Comme nous allons le développer dans la suite, le traitement de l'espace mobilise un réseau complexe de régions cérébrales. Comment les différentes opérations qui permettent l'acquisition et l'utilisation des informations spatiales sont-elles distribuées sur les différentes structures qui constituent un réseau fonctionnel ? Quelles sont les lois qui régissent les interactions entre ces structures au sein de ces réseaux ? Ces questions sont d'autant plus complexes que la notion de réseau s'étend à tous les niveaux d'organisation du cerveau. Dans la perspective d'étudier les bases neurales du traitement de l'espace, nous nous intéressons au réseau constitué par des populations de cellules dont l'activité reflète le traitement de l'espace.

L'étude des bases neurales des comportements spatiaux doit son essor extraordinaire aux hypothèses et concepts énoncés par O'Keefe et Nadel à la fin des années 1970, sur la base des résultats expérimentaux obtenus par O'Keefe et

ses collaborateurs. Dans un ouvrage paru en 1978 (*Hippocampus as a cognitive map*), ces deux auteurs s'interrogent sur les fondements philosophiques de la notion d'espace puis proposent un modèle de classification des stratégies d'orientation et de navigation. Une analyse approfondie et exhaustive des données comportementales, lésionnelles, pharmacologiques, et électrophysiologiques les conduit à énoncer l'hypothèse fondamentale selon laquelle l'hippocampe serait le support neuroanatomique des représentations spatiales de l'environnement. Cette hypothèse est si riche en prédictions, suggestions, et idées multiples qu'elle va donner une impulsion énorme aux études sur les bases biologiques (au sens large) des comportements spatiaux. Trente années plus tard, cet ouvrage reste l'événement fondateur de nombreux axes de recherche actuels et la théorie des cartes cognitives continue d'exercer une grande influence sur la modélisation des comportements spatiaux.

Introduction

Pour le psychologue, l'espace peut être conçu comme un objet d'étude propre, soulevant des questions sur la nature des informations spatiales, leur codage ou encore sur leur utilisation lors des comportements orientés. Mais l'espace fournit aussi un moyen permettant l'étude d'un certain mode de fonctionnement cognitif et de ses bases cérébrales. Les travaux de cette thèse reposent en fait sur ces deux conceptions puisqu'ils visent à la fois à aboutir à une meilleure compréhension du codage neuronal des informations spatiales impliquées dans les processus de navigation, mais aussi à aborder les bases neurales de processus plus généraux comme la mémoire, qui est nécessaire à la mise en place de comportements complexes.

Dans ce cadre, lors de l'exploration, l'organisme sélectionne, intègre et mémorise des informations spatiales fournies par certains repères saillants et par la structure générale de l'environnement. Ces informations, combinées avec d'autres informations d'origine endogène issues à la fois des systèmes sensoriels de perception du mouvement et des systèmes motivationnels, sont organisées sous forme de représentations spatiales dont les propriétés fonctionnelles montrent qu'elles sont plus qu'une simple juxtaposition de ces différentes informations. Mes recherches concernent les processus d'acquisition, de traitement et d'utilisation des informations spatiales lors de l'exploration d'un environnement. Dans ce travail de recherche, j'ai étudié les bases neurales sous-tendant ces processus, grâce à l'utilisation conjointe de différentes méthodes : les enregistrements électrophysiologiques de l'activité des neurones et l'étude du comportement. Même si de nombreuses régions participent au traitement de l'espace, il est indiscutable que l'hippocampe est impliqué de manière importante dans ce traitement, ce qui nous a motivés à nous concentrer plus particulièrement sur cette structure. Une des particularités de l'hippocampe est de contenir des cellules de lieu qui ont une activité fortement liée à la mémoire spatiale. Une fois que les neurones enregistrés chez un animal éveillé et libre de ses mouvements sont bien identifiés, il est possible de tester les répercussions de certaines manipulations environnementales sur l'activité de ces neurones et sur leur capacité à s'adapter avec flexibilité à ces modifications et par conséquent, sur la mémoire spatiale de l'animal.

Dans le premier volet de ma thèse (**étude 1**), j'ai évalué la contribution relative de différents repères correspondant à des cadres de référence différents, dans l'activité des cellules de lieu. Les animaux utilisent de façon concomitante plusieurs cadres de référence pour effectuer des tâches spatiales. Un cadre de

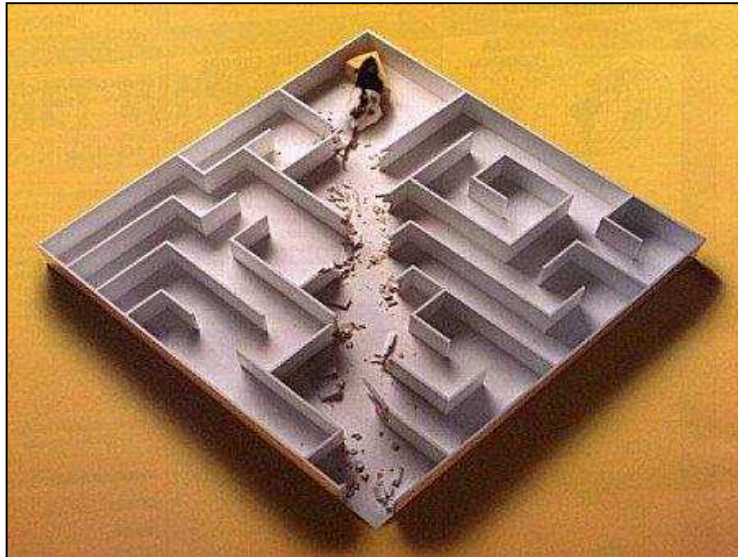
référence peut être défini comme un ensemble de repères stables qui déterminent un système de coordonnées (par exemple la pièce d'expérience ou le dispositif expérimental dans lequel évolue l'animal). L'objectif était de comprendre comment s'effectue l'articulation entre ces différents référentiels au niveau de l'activité des cellules de lieu de l'hippocampe. Pour répondre à cette question, nous avons étudié les effets d'un conflit entre des repères distants, constituant le référentiel de la pièce et des repères proches, constituant le référentiel de l'espace des déplacements des animaux. Cette étude nous a permis d'examiner certaines propriétés de flexibilité des cellules de lieu dans le cadre de l'adaptation aux changements de l'environnement.

Dans le deuxième volet, qui s'inscrit dans le cadre d'une ACI Neurosciences Intégratives et Computationnelles, j'ai étudié le rôle d'un gène codant pour un facteur de transcription *zif268* de la famille *Erg* dans l'activité spatiale des cellules de lieu hippocampiques. Pour y parvenir, j'ai dédié une partie de ma thèse au développement d'un poste d'enregistrement d'électrophysiologie chez la souris. L'idée centrale est que le stockage mnésique nécessite des changements, dépendants de l'activité, de l'expression de gènes et de protéines qui conduisent à des modifications durables de la force synaptique, de la connectivité et du fonctionnement des réseaux neuronaux par l'expérience. Une étape clef de ces mécanismes moléculaires est l'activation d'une classe de gènes immédiats précoces (IEGs) codant des facteurs de transcription inductibles : agissant comme des « commutateurs moléculaires », ils contrôlent l'activation de programmes génomiques des neurones aboutissant au type de remodelage synaptique et de changements des propriétés des réseaux neuronaux requis pour l'expression de la mémoire à long terme. Le but de cette étude a été d'identifier le rôle de *zif268* dans l'apprentissage et la mémoire. Les études récentes de souris génétiquement modifiées suggèrent que *zif268* joue un rôle crucial dans une forme de plasticité synaptique (la potentialisation à long terme ou PLT) et dans la mémoire à long terme (Jones et al., 2001 ; Bozon et al., 2002 et 2003). Le premier objectif était d'identifier comment ce gène contrôle les propriétés de décharge des neurones de l'hippocampe (**étude 2**). J'ai donc examiné la stabilité dans le temps des cellules de lieu de souris « knock out » pour le gène *zif268*, déjà bien caractérisées au plan comportemental, afin de déterminer dans quelle mesure cette délétion génétique spécifique affecte la représentation de l'espace, et plus globalement affecte le souvenir à long terme de l'environnement. Le deuxième objectif était d'évaluer la reconsolidation de la mémoire spatiale chez ces souris (**étude 3**). La question était de savoir si ce processus de reconsolidation engage les mêmes processus dépendants de *zif268* que lors de la consolidation de la mémoire spatiale, qui est

altérée chez ces souris (Jones et al., 2001). Ces deux dernières études sur le souris K.O. pour *zif268* nous ont permis de renforcer l'hypothèse d'un lien entre la PLT et la mémoire spatiale.

Première partie introductive

La représentation de l'espace chez l'animal



« L'homme n'est pas le seul animal à penser, mais il est le seul à penser qu'il n'est pas un animal »

Paul Broca (1824 - 1880)
Chirurgien et Anthropologue français

La perception de l'espace

« Space, plays a role in all our behavior. We live in it, move through it, explore it, defend it...yet we find it extraordinarily difficult to grip with space. »

O'Keefe et Nadel (1978a)

La cognition spatiale concerne l'ensemble des processus qui permettent aux animaux d'acquérir, de traiter, de mémoriser et d'utiliser des informations spatiales pour effectuer des déplacements orientés. Au cours de la phylogenèse, l'évolution des mécanismes de la cognition spatiale (et de la cognition en général) a permis aux espèces animales d'accroître leur indépendance vis à vis des variations environnementales.

Les animaux perçoivent l'espace et en extraient des informations pertinentes pour les comportements spatiaux en utilisant deux types d'informations sensorielles : les informations externes fournies par l'environnement (**informations allothétiques**) et les informations internes fournies par les déplacements propres de l'animal (**informations idiothétiques**). Les informations allothétiques sont principalement de nature visuelle, auditive et olfactive, tandis que les informations idiothétiques proviennent des systèmes vestibulaires, somatosensoriels et proprioceptifs. La vision est une modalité fondamentale pour la perception des informations spatiales et la plupart des modèles comportementaux de l'orientation utilisés exploite les capacités des animaux à discriminer des repères visuels présents dans l'environnement. Les informations olfactives et dans une moindre mesure les informations auditives peuvent jouer un rôle, mais ce rôle semble limité. En effet, l'animal peut difficilement utiliser des informations olfactives et auditives pour compenser l'absence ou la non pertinence des informations visuelles. En revanche, ces informations (en particulier olfactives) pourraient renforcer et corroborer les informations visuelles. L'animal serait ainsi capable de détecter des conflits entre les différentes sources d'information qui peuvent survenir lors de changements de l'environnement (Lavenex et Shenck, 1995).

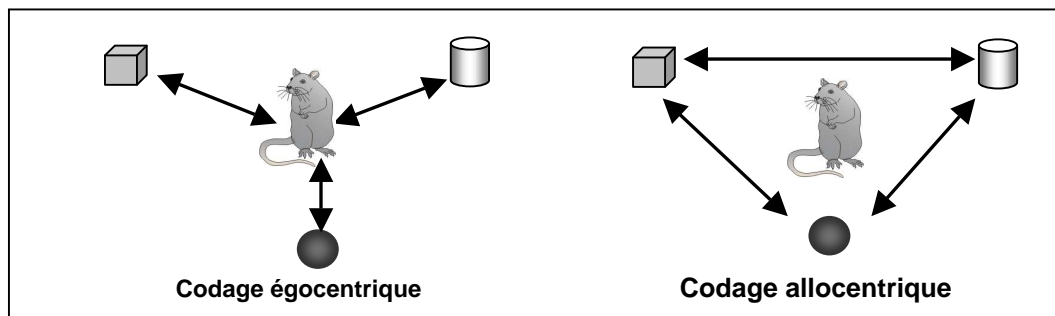
La diversité des comportements spatiaux

Il existe de nombreuses stratégies d'orientation. Parmi les plus simples, l'animal peut utiliser des repères directement associés au but ou la perception du but lui-même (stratégie de guidage visuel) pour se rendre d'un point à un autre. Il peut aussi parcourir des chemins fixes, déterminés par la mémorisation d'une séquence de réponses stéréotypées qui résultent de l'association d'un événement

perceptif (l'apparition de tel repère) avec un événement moteur (tourner sur la droite). Ces différentes stratégies, qui reposent sur des règles simples, sont peu flexibles et confèrent à l'animal une capacité d'adaptation relativement limitée. Elles ne semblent utilisées de façon prépondérante que dans certaines conditions, par exemple lorsque l'environnement est pauvre en repères spatiaux, ou encore lors de phases spécifiques de l'apprentissage.

Une stratégie d'orientation différente permet à l'animal d'effectuer des trajectoires directes vers certains lieux importants de son environnement (par exemple son gîte) en l'absence d'informations environnementales (revue dans Biegler, 2000). Ce comportement, dit d'intégration des trajets, repose sur l'utilisation des informations inhérentes aux mouvements propres de l'animal. Ainsi, l'intégration des signaux vestibulaires résultant des accélérations angulaires et linéaires effectuées au cours du déplacement permet à l'animal de connaître, à tout instant, la direction et la distance de son point de départ. Un vecteur pointant sur l'origine du déplacement est en quelque sorte mis à jour de façon continue. L'animal est alors capable de retourner en ligne droite vers son gîte après avoir effectué un trajet aller sinueux. Ce système a plusieurs avantages. En particulier, il limite considérablement la quantité d'informations dont doit disposer l'animal pour un retour efficace à son gîte. Il présente cependant l'inconvénient majeur d'être très sensible aux erreurs de calcul. Ces erreurs sont cumulatives et aboutissent, lors de déplacements importants, à ce que les informations de distance et de direction soient inutilisables. De ce fait, ce système d'orientation n'est utilisé que dans des circonstances particulières, comme la toute première investigation d'un environnement nouveau ou lors des déplacements en l'absence de toute information visuelle (par exemple, dans l'obscurité).

Tous ces comportements spatiaux peuvent être étudiés dans différents systèmes de coordonnées. Ces systèmes sont utilisés pour définir les positions des individus évoluant dans un espace donné. On distingue deux grands systèmes de coordonnées, les référentiels **égocentré** et **allocentré** (pour revue, voir Benhamou, 1998).



Dans un référentiel égo-centré, la position d'un objet de l'environnement (par exemple, un but à atteindre pour obtenir de la nourriture) est codée dans un système de coordonnées dont le centre est l'animal (axe corps-tête). Chez les primates, il y a plusieurs cadres de référence égo-centrés en fonction de l'effecteur considéré (l'œil, tête, la main, etc.) ce qui présuppose qu'il existe des mécanismes d'intégration entre ces multiples cadres de référence pour établir le référentiel global de l'organisme (Stein, 1989). Dans un référentiel allo-centré, un objet est codé dans un système de référence extérieur à l'animal, c'est-à-dire fourni par l'environnement.

De la perception à la représentation

L'observation du comportement dans certaines tâches suggère fortement qu'il existe une forme de représentation de l'espace chez l'animal. Par exemple, un rat est capable de localiser un lieu non directement perceptible en utilisant l'ensemble des repères disponibles dans la pièce d'expérience et ce, quel que soit son point de départ (Morris, 1981). L'animal ne pouvant utiliser un repère associé au but ou reproduire une trajectoire stéréotypée, il est difficile d'interpréter sa performance sans faire l'hypothèse de l'existence d'une représentation spatiale au sein de laquelle seraient codés la structure de l'environnement et les positions de certains lieux. Ce concept a été popularisé sous le terme de "carte cognitive". Historiquement, les cartes cognitives sont définies comme des représentations allo-centrées (indépendantes de la position de l'animal) de l'environnement (Tolman, 1948). Ces cartes conserveraient les informations concernant les relations spatiales entre les différents lieux, ce qui suppose l'existence d'un système de coordonnées, ou référentiel, permettant la localisation de points particuliers dans l'environnement. Cette hypothèse a connu bien des difficultés avant d'être acceptée. Elle est le fruit d'une lente maturation et de nombreux affrontements théoriques entre les partisans des positions « behavioristes » qui considéraient l'organisme comme une machine à établir des relations stimulus-réponse (S-R), et les partisans de la position « cognitiviste » qui considéraient l'organisme comme capable d'établir une représentation de son environnement. Bien qu'il reste encore de nombreuses interrogations sur leur nature, les cartes cognitives permettraient à l'animal de se détacher des variations brusques de l'environnement et de maintenir une certaine « homéostasie comportementale ». Ainsi, les représentations spatiales permettent la reconnaissance de l'environnement et l'identification des modifications qui ont pu l'affecter, et autorisent la simulation et la planification des déplacements en fonction des

contraintes spatiales. En fin de compte, elles contribuent à accroître la flexibilité du comportement de l'animal, et donc à accroître ses chances de survie quand il est confronté aux variations souvent brutales de l'environnement.

La piscine de Morris, une tâche de navigation basée sur la représentation spatiale allocentrée

Le paradigme expérimental qui a définitivement confirmé la possibilité que l'animal puisse s'orienter sur la base d'une mémoire des lieux et de leurs relations spatiales est celui imaginé par Richard Morris en 1981. Le dispositif est un bassin circulaire contenant de l'eau rendue opaque dans lequel se trouve, à un emplacement spécifique, une plate-forme submergée et donc invisible. La tâche de l'animal, lorsqu'il est placé dans le bassin, est de localiser et d'atteindre cette plate-forme (servant alors de refuge). Comme le point de départ de l'animal est variable d'un essai à l'autre, une solution rigide consistant à adopter une trajectoire stéréotypée n'est pas applicable. En fait, la seule manière pour l'animal de résoudre le problème est de mémoriser la localisation de la plate-forme sur la base des informations provenant de l'environnement distant. Est-il possible cependant que l'animal ait pu simplement mémoriser un "instantané photographique" de la configuration des indices environnementaux tels qu'ils sont perçus à partir de la plate-forme ? Dans ce cas de figure, l'animal chercherait à atteindre la plate-forme en se déplaçant de manière à réduire la discordance entre la configuration perçue et la configuration mémorisée de ces indices. Toutefois, l'analyse des trajectoires montre que l'animal ne se comporte pas de cette façon. L'aspect relativement linéaire des trajets indique que, loin de chercher à continuellement ajuster sa trajectoire, l'animal semble plutôt avoir déterminé le but dès le point de départ et avoir ainsi planifié sa trajectoire en conséquence. Il semble donc capable de localiser la plate-forme à partir des seules informations environnementales et indépendamment de son point de départ (Morris, 1981), et ceci même s'il n'a pas eu auparavant la possibilité d'« explorer » la partie du labyrinthe utilisée comme point de départ (Sutherland et Rudy, 1988; Matthews et Best, 1997). Cette localisation reposerait donc sur une représentation de l'environnement, indiquant les positions respectives du point de départ et du but, permettant ainsi de procéder au calcul du trajet optimal.

Le rôle de l'exploration dans l'élaboration des représentations

L'exploration est une manifestation essentielle de l'activité de l'animal. Un rat affamé, placé dans un environnement nouveau contenant de la nourriture commencera toujours par explorer intensément cet environnement avant de consommer la nourriture. En conséquence, il est peu d'études comportementales qui ne soient précédées d'une phase initiale de familiarisation avec l'espace expérimental. Loin d'avoir un rôle secondaire, cette phase permet à l'animal de prendre connaissance de son nouvel environnement et d'assurer la stabilisation de son activité, indispensable à la réalisation des tests ultérieurs. En fait, la suppression de cette phase rend impossible la production de performances correctes dans la plupart des situations de résolution de problèmes spatiaux auxquels peut être confronté le sujet. Les comportements exploratoires manifestés par les rongeurs lorsqu'ils sont placés pour la première fois dans l'espace d'expérience se caractérisent par une activité locomotrice intense entrecoupée d'arrêts. Au cours de ces arrêts, l'animal inspecte de façon plus "attentive" certains objets ou certains emplacements. L'évolution de cette activité décroît en fonction du temps jusqu'à atteindre un niveau asymptotique relativement bas par rapport au niveau initial. Tout changement intervenant dans un espace précédemment exploré réactive les comportements d'exploration, traduisant le fait que le sujet ne reconnaît plus la totalité ou une partie de la situation précédente.

De nombreuses expériences montrent que l'animal réagit ainsi à des modifications, même faibles, des relations spatiales entre les objets de l'environnement par une augmentation de son activité exploratoire (Poucet et al, 1986; Thinus-Blanc et al, 1987). Cette augmentation peut, en fonction du type de relations spatiales manipulé, être dirigée soit vers les objets déplacés - un comportement qui traduit la détection et la localisation correcte de la source du changement -, soit vers l'ensemble des objets - un comportement qui traduit une bonne détection mais une localisation imparfaite de la source du changement. Enfin certaines modifications n'entraînent aucune réaction exploratoire, traduisant probablement une généralisation de la situation précédente à la nouvelle situation.

Ces expériences illustrent bien les fonctions de reconnaissance et d'identification de l'environnement dévolues au système de traitement de l'information spatiale. La portée de ces fonctions dépasse toutefois la simple comparaison entre des données représentées et des données perçues. En effet, en libérant les canaux attentionnels responsables de l'échantillonnage de l'environnement connu, l'utilisation d'une carte spatiale permet la focalisation de

ces canaux vers les aspects inattendus (non représentés), et rend donc possible les activités exploratoires à venir. C'est en ce sens que la carte joue un rôle fondamental dans toute activité cognitive en pilotant le recueil ultérieur des informations (Thinus-Blanc, 1988).

Importance de la géométrie de l'espace

La structure géométrique de l'espace semble jouer un rôle fondamental dans l'établissement du référentiel spatial nécessaire à la navigation. Par structure géométrique, on entend les aspects configuratifs qui participent à l'anisotropie de l'espace, et qui fournissent donc des informations directionnelles directement extractibles de la structure asymétrique de l'espace. Un environnement de forme rectangulaire est un espace géométrique anisotrope, présentant une information directionnelle inhérente à sa structure. Au contraire, une arène circulaire constitue un espace isotrope. Une certaine anisotropie y est cependant artificiellement créée par l'introduction d'objets qui brisent sa symétrie structurale.

Le rôle de la géométrie de l'espace a tout d'abord été suggéré par Cheng (1986) et Margules et Gallistel (1988). Leurs expériences consistent à placer le rat dans une arène de forme rectangulaire dont chacun des coins est marqué par un indice visuel saillant et différent. En outre, l'un de ces coins contient une parcelle de nourriture cachée (enterrée dans la sciure du sol). Lors d'un essai de présentation, l'expérimentateur montre à l'animal où se trouve la nourriture. Le rat est alors retiré de l'arène et placé dans une boîte opaque que l'on fait lentement tourner afin de le désorienter. Il est enfin relâché au centre de l'arène pour un essai de choix, sa tâche étant de localiser le coin du dispositif dans lequel la parcelle de nourriture est enterrée. Le résultat généralement obtenu dans cette situation est que les choix effectués par les animaux sont majoritairement orientés vers le coin correct et son équivalent géométrique (le coin opposé), les fréquences de visites de ces deux lieux n'étant pas sensiblement différentes. Ce comportement est observé malgré la présence des indices caractérisant chacun des coins de l'arène qui, en principe, auraient dû permettre une discrimination aisée du coin correct et de son équivalent géométrique. La géométrie globale de l'environnement semble donc être l'un des paramètres fondamentaux du codage spatial effectué par l'animal (voir Hermer et Spelke, 1994 pour des observations similaires chez le jeune enfant).

La connectivité de l'espace

Pour être opérationnelle, la représentation de l'espace construite par l'animal doit donner des informations sur la structure et les propriétés des trajets possibles dans l'environnement. Certaines expériences montrent que la connectivité spatiale est effectivement intégrée par l'animal. Dans des dispositifs de type labyrinthe, l'animal est capable d'effectuer des détours tenant compte de la longueur et de l'orientation des trajets possibles (Tolman et Honzik, 1930, Poucet et al, 1983). Ces expériences correspondent à une mise à l'épreuve des plus pures de l'hypothèse des cartes cognitives. En effet, elles soulignent que le contenu spatial de telles représentations n'est pas limité à des points particuliers de l'espace, mais comprend également certains aspects concernant la structure d'ensemble de l'environnement dans lequel se déplace le sujet. Cette conclusion est en contradiction non seulement avec les modèles qui proposent que l'intégration des informations spatiales s'effectue sélectivement dans les lieux importants pour l'animal (Collett et al, 1986), mais également avec ceux qui, dans une perspective connexionniste, proposent d'assimiler les cartes cognitives à des cartes matricielles codant, de manière rigide, les associations entre lieux (définis en termes de vues locales de l'environnement) et réponses motrices du sujet (Leonard et McNaughton, 1990).

La richesse des représentations spatiales construites par l'animal conduit naturellement à s'interroger sur la nature de leur support neuronal. Bien que l'on sache aujourd'hui que de nombreuses aires cérébrales sont impliquées dans la genèse et l'utilisation des représentations spatiales, l'hippocampe occupe toujours une place privilégiée dans ce domaine de recherche. Dans les chapitres suivants, j'aborde les questions concernant la contribution de l'hippocampe dans l'élaboration des représentations spatiales à travers l'étude de l'activité électrophysiologique hippocampique. Mais avant cela, il est utile de faire quelques rappels sur l'organisation neuro-anatomique de l'hippocampe et des différentes aires cérébrales ayant un rôle dans le traitement de la mémoire spatiale.

Deuxième partie

Les bases neurobiologiques et neurophysiologiques de la mémoire spatiale

« La mémoire rassemble en un tout, les innombrables phénomènes de notre existence...notre conscience serait divisée en autant de fragments sans la force de la liaison et d'unification de la mémoire. »

Ewald Hering, physiologiste allemand

Chapitre 1

Neuroanatomie de la mémoire spatiale

1.1. Introduction

En 1978, O'Keefe et Nadel ont émis l'hypothèse que l'hippocampe constitue le substrat neuroanatomique des représentations spatiales allocentrées (cartes cognitives). Cette hypothèse s'appuyait sur des données lésionnelles et fut surtout étayée par la découverte de cellules de l'hippocampe. Trente années plus tard, l'hippocampe occupe toujours une place centrale dans l'étude des structures impliquées dans la cognition spatiale.

Si les théories étudiant les relations structure/fonction accordent à la formation hippocampique une importance apparemment démesurée, il semble alors de plus en plus évident que les comportements spatiaux ne sont pas uniquement pris en charge par cette structure mais par un ensemble de structures aux rôles complémentaires.

Au cours de ces dernières années, l'intérêt porté à la fonction du néocortex dans le traitement des informations spatiales et à ses interactions avec l'hippocampe a considérablement grandi. Des données lésionnelles et électrophysiologiques montrent que de nombreuses régions sous corticales (subiculum, striatum) et corticales (cortex pariétal, cortex post et périrhinal, cortex entorhinal, cortex préfrontal...) contribuent, elles aussi, au traitement de l'espace. Compte tenu de la connectivité de ces régions entre elles et avec la formation hippocampique, l'hypothèse d'un vaste réseau fonctionnel est tout à fait fondée.

Le but principal de ce chapitre est de faire le point sur les données neuroanatomiques (Lopes da Silva, Witter, Boeijinga et Lohman, 1990 ; Witter et Amaral, 2004) mettant en relief la région hippocampique ainsi que les régions fonctionnellement interconnectées. Je décrirai aussi les structures dans lesquelles on trouve des neurones avec des corrélats spatiaux.

1.2. La région hippocampique

1.2.1. Définition

L'hippocampe, et plus largement la formation hippocampique, représente une composante majeure du système nerveux du rat. Swanson et al. (1987) ont estimé que la surface combinée de toutes les parties de la formation hippocampique représenterait 1,2 cm², alors que la surface du néocortex atteindrait 1,5 cm².

L'hippocampe est une structure corticale phylogénétiquement ancienne (archicortex), appartenant au système limbique. Il est bilatéral, symétrique et en forme de C. Chaque C débute rostro-dorsalement au niveau des noyaux septaux et finit caudo-ventralement à la naissance du lobe temporal. En outre, plus on va dans le sens dorso-ventral, plus la formation hippocampique s'écarte de la ligne médiane vers le lobe temporal. Cependant, pour simplifier, on dira que l'axe septo-temporal représente l'axe de l'hippocampe (figure 1.1). On dissocie ainsi l'hippocampe septal de l'hippocampe temporal (d'ailleurs plus souvent rencontré sous la dénomination « hippocampe dorsal/ hippocampe ventral »).

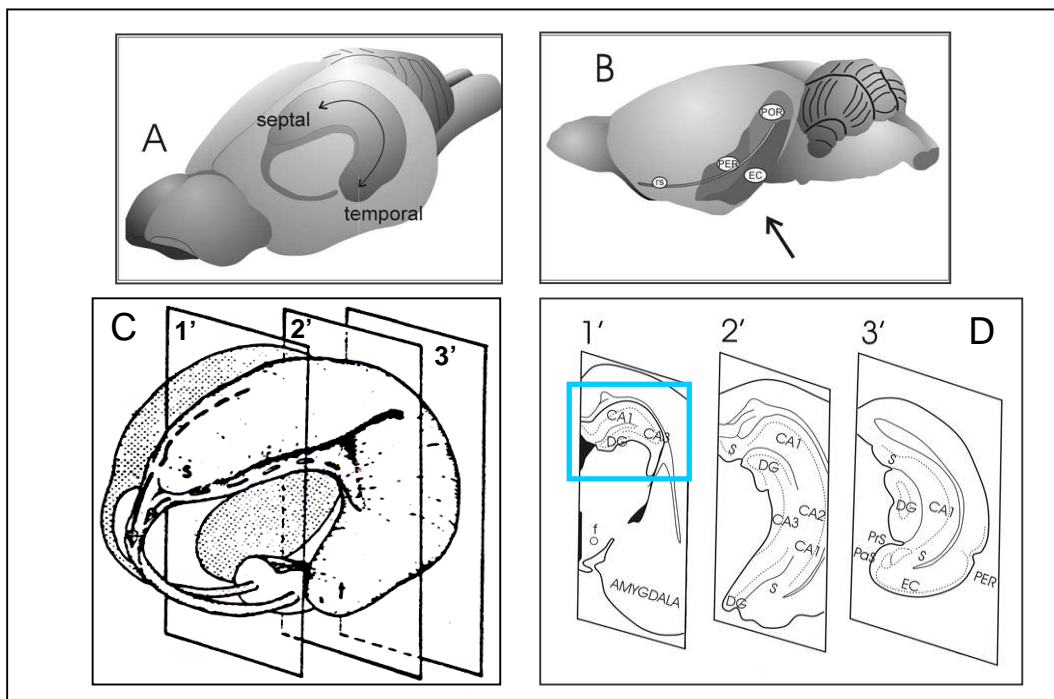


Figure 1.1. Représentation schématique de l'organisation tridimensionnelle de la région hippocampique dans le cerveau de rat. A. La forme en C de l'hippocampe est représentée en transparence dans le cerveau de rat. L'axe septo-temporal est représenté par une flèche. B. Reconstruction en vue latérale de la localisation des cortex périrhinal (PER), postrhinal (POR), et entorhinal (EC). C. Vue tridimensionnelle de la formation hippocampique seule. D. Les trois sections frontales (numérotées de 1' à 3') à différents niveaux rostrocaudaux. Abréviations : CA1, CA2 et CA3, champs hippocampiques ; DG, gyrus dentelé ; f, fornix ; S, subiculum ; rs, sulcus rhinal. D'après Witter et Amaral (2004).

Le terme de région hippocampique¹ englobe à la fois la **formation hippocampique** et la **région parahippocampique**. Ces deux ensembles se distinguent avant tout par leur nombre de couches cellulaires et leur connectivité générale.

-La **formation hippocampique** est constituée de trois régions cytoarchitectoniquement distinctes: le gyrus dentelé (DG), l'hippocampe, proprement dit, divisé en sous-régions CA1, CA2 et CA3² et le subiculum. Les trois régions de la formation hippocampique possèdent trois couches cellulaires, ce qui est propre à l'allocortex, (le néocortex est constitué de 6 couches).

-La **région parahippocampique** comprend le cortex entorhinal (EC), les cortex périrhinal (PER) et postrhinal (POR) ainsi que le présubiculum et le parasubiculum³.

1.2.2. La formation hippocampique

1.2.2.1. Organisation et connectivité

L'hippocampe est constitué par plusieurs types cellulaires: les cellules pyramidales (cellules de lieu), les interneurons et les cellules en panier, dont le corps cellulaire se trouve dans la même couche que celui des cellules pyramidales. Les interneurons, sont situés dans des couches majoritairement occupées par des fibres nerveuses (stratus oriens). Ces interneurons encore peu connus sont essentiellement caractérisées par des immunomarquages spécifiques de neurotransmetteurs, en particulier du GABA (Ribak et al., 1978 ; Seress et Ribak, 1983) et auraient une fonction dans des circuits locaux.

¹ Les structures concernées par la terminologie 'région hippocampique' varient souvent selon les auteurs. La définition adoptée ici est celle d'Amaral et Witter, 2004, revue qui regroupe les données anatomiques les plus récentes.

² CA est l'abréviation de Champs Amoniens, en référence au terme de Corne d'Amon qui est l'ancien nom de l'hippocampe. Amon était un dieu de l'Égypte pharaonique souvent représenté comme une chimère tête de bélier sur un corps d'homme.

³Le subiculum, le présubiculum (PrS) et parasubiculum (PaS) sont parfois regroupés sous le terme de complexe subiculaire. Une des raisons pour laquelle Witter et Amaral n'utilisent pas cette dénomination réside dans le fait que le subiculum possède trois couches cellulaires alors que le PrS et le PaS possèdent plus de trois couches ; une autre raison consiste à dire que le subiculum est une structure de sortie de la formation hippocampique, tandis que les deux autres structures constitueraient une voie d'entrée du thalamus antérieur vers la formation hippocampique. Pour une discussion complète de ce point particulier, voir la section *Should the subiculum, presubiculum and parasubiculum be grouped together as the "subicular complex"?* de Witter et Amaral (2004).

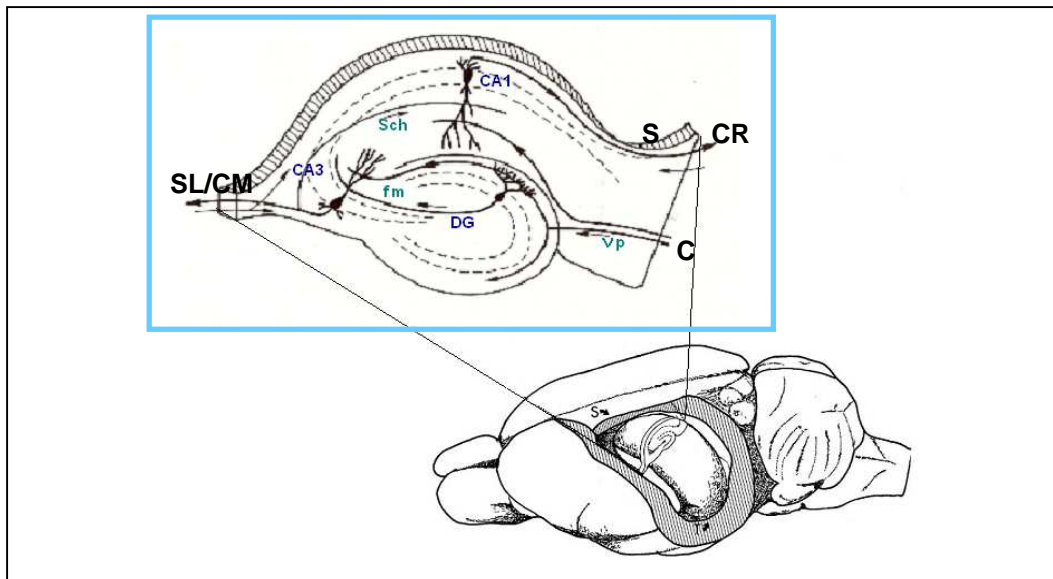


Figure 1.2. Coupe de l'hippocampe de rat montrant l'organisation architectonique et la connectivité intrinsèque (circuit tri-synaptique : **vp** pour voie perforante, **fm** pour fibres moussues, **Sch** pour collatérale de Schaffer). **CE**: cortex entorhinal, **DG**: gyrus dentelé, **SL**: septum latéral, **CM**: corps mammillaires, **S**: subiculum, **CR**: cortex rétrosplénial (d'après Amaral et Witter, 1989).

Le flux d'informations à travers l'hippocampe est unidirectionnel, ce qui le distingue encore une fois des zones néocorticales pour lesquelles la réciprocity des connexions constitue la norme. Le circuit le plus simple et le plus souvent décrit est constitué d'une voie principale excitatrice tri-synaptique mettant en jeu 4 groupes de neurones : les cellules de la couche II (superficielle) du cortex entorhinal envoient leurs axones, formant la voie perforante (voir 1 de la figure 1.3), vers le gyrus dentelé pour contacter les dendrites des cellules granulaires. Les axones des cellules granulaires, les fibres moussues (2), contactent les cellules pyramidales du CA3 qui, à leur tour, envoient des axones, appelés collatérales de Schaffer (3), vers l'aire du CA1 (figure 1.3). Le champ CA1 et le subiculum sont directement interconnectés avec le cortex entorhinal, ce qui permet une réentrée des informations dans l'hippocampe, formant ainsi une boucle anatomique (Naber et al., 2001) (figure 1.2).

En réalité, la connectivité intrinsèque est beaucoup plus complexe que cela et combine une connectivité 'sérielle' (circuit tri-synaptique) avec une connectivité 'parallèle'. Ainsi, les couches II et III du cortex entorhinal envoient directement des axones aux régions CA3 (par la voie perforante (1')) et CA1 (par la voie temporo-ammonique (1'')) respectivement. Par ailleurs, il existe, à plusieurs niveaux (en particulier pour CA3), un réseau de connexions intrinsèques qui élargissent la transmission de l'information. Ainsi, les cellules pyramidales de

CA3 sont interconnectées entre elles du côté ipsilatéral grâce aux collatérales récurrentes (3'), mais également avec le CA3 controlatéral⁴ (figure 1.3).

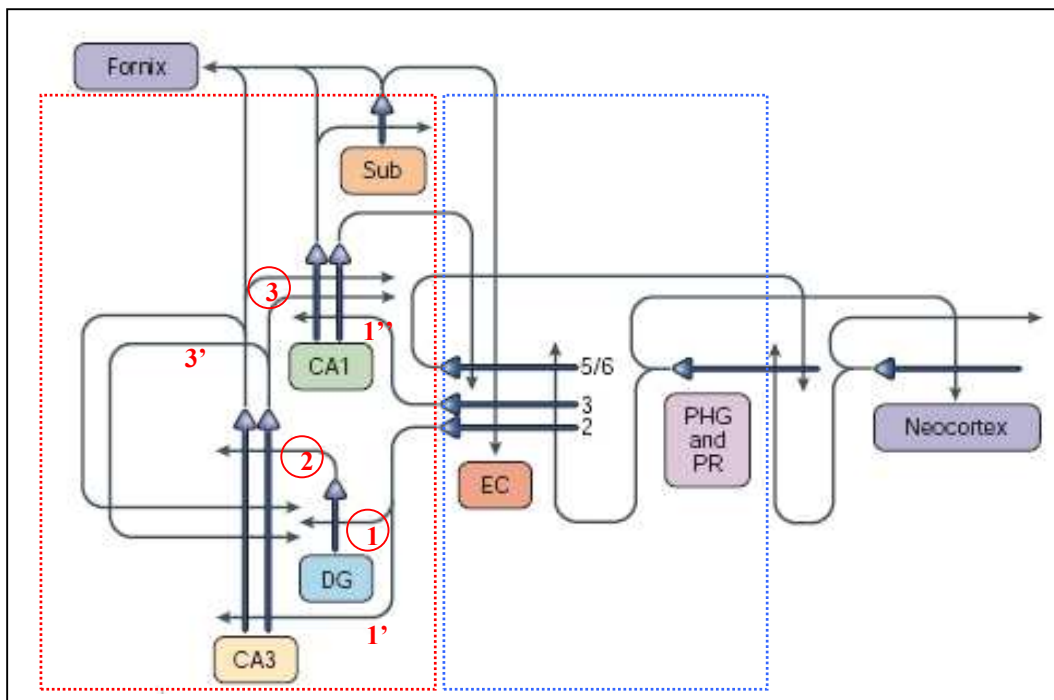


Figure 1.3. Connexions dans le réseau cortico-hippocampique. Les informations sensorielles provenant du néocortex arrivent dans les couches superficielles du cortex entorhinal (EC) via le gyrus parahippocampique (PHG) et/ou via le cortex périrhinal (PR). Depuis le cortex entorhinal, l'information est acheminée à l'hippocampe. Les principales sous-régions de l'hippocampe et la connectivité intrinsèque entre les sous-régions et ses relations avec les couches superficielles (II et III) du cortex entorhinal sont décrites dans le texte (1 voie perforante indirecte ; 2 fibres moussues ; 3 collatérale de Schaffer ; 1' voie perforante directe ; 1'' voie temporo-ammonique ; 3' collatérale récurrente de CA3). CA1 envoie ensuite des axones à la fois vers les régions sous-corticales, mais aussi vers les couches profondes du cortex entorhinal (V et VI), soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire du subiculum (Sub). Le réseau cortico-hippocampique est bouclé quand l'information provenant de CA1 est acheminée par le cortex entorhinal vers les aires corticales associatives (PHG et PR), qui à leur tour peuvent envoyer l'information aux aires néocorticales. En terme de connectivité, le cortex postrhinal (POR) est l'équivalent chez le rat du gyrus parahippocampique du singe.

Les traits épais représentent les dendrites ; à leur extrémité, les triangles représentent les corps cellulaires. Les flèches représentent les axones, donnant la directionnalité de la connexion. Les traits en pointillés rouges délimitent la **formation hippocampique**, les pointillés bleus délimitent la **région parahippocampique**. L'ensemble des deux forme la région hippocampique. DG, Gyrus Dentelé. D'après Nakazawa et al., 2004.

⁴ les hippocampes de chaque hémisphère sont connectés entre eux par les fibres commissurales du corps calleux (200 millions de fibres chez l'homme).

1.2.2.2. Différences CA1/CA3

Parmi les trois types d'afférences excitatrices que reçoivent les neurones de la région CA3, les fibres provenant des collatérales récurrentes (3') sont les plus nombreuses, représentant chez le rat, 12.000 fibres par cellule pyramidale. La voie perforante directe provenant du CE (1') représente quant à elle 4.000 fibres (soit 3 fois moins que les récurrentes) et la voie perforante indirecte acheminée par les fibres moussues (2) ne représente que 50 fibres (soit 250 fois moins que les récurrentes) (figure 1.3). En raison de ces collatérales récurrentes, la connectivité entre cellules pyramidales de CA3 est très robuste ; ainsi, une cellule donnée est directement connectée avec au moins 2% des autres cellules de CA3 (Miles et Wong, 1986 ; MacVicar et Dudek, 1980).

Contrairement à CA3, CA1 ne possède pas de collatérales récurrentes directes (il existe uniquement quelques collatérales d'axones de CA1 à destination des cellules du subiculum qui projettent à leur tour sur les dendrites d'autres cellules CA1). Un autre aspect de la connectivité de CA1 qui contraste avec celle de CA3 est la faible projection contralatérale à travers les fibres commissurales. L'ensemble de ces différences de connectivité entre CA3 et CA1 permet d'envisager que ces deux types de régions présentent des caractéristiques fonctionnelles complètement différentes, un point sur lequel je reviendrai en détail dans la partie portant sur les processus de 'pattern separation' et de 'pattern completion' (chapitre 3.2).

On peut toutefois d'ores et déjà formuler une des conséquences fonctionnelles de la récurrence (et de la connectivité 'parallèle' en général) : chaque région hippocampique ne serait donc pas entièrement tributaire de la région qui la précède, comme le laisse supposer la connectivité de type sériel. Chaque région pourrait donc aussi bien agir indépendamment des autres régions, que de concert avec elles.

1.2.2.3. Afférences et efférences

Les afférences

La formation hippocampique reçoit des afférences des régions sous-corticales (Amygdale, noyaux supra mamillaires, hypothalamus latéral, thalamus antérieur, aires tegmentales ventrales, noyau du raphé, locus coeruleus...) (Amaral et Witter, 1995) et corticales (cortex entorhinal, septum médian) (Risold et Swanson, 1997). Les informations provenant des diverses aires corticales transitent en majorité par le cortex entorhinal qui constitue ainsi une véritable porte d'entrée

pour l'hippocampe (je décrirai dans une section suivante les afférences principales du cortex entorhinal).

Les efférences

Le subiculum (avec la fimbria/fornix) est l'une des sorties majeures de l'hippocampe vers des structures corticales et sous-corticales. Les régions corticales les plus innervées par le subiculum sont le cortex préfrontal médian, le cortex rétrosplénial, le cortex périrhinal et les pré- et parasubiculum. Dans une moindre proportion, le subiculum envoie des projections à destination des cortex entorhinal et postrhinal. Les principales cibles sous-corticales sont le septum et les noyaux mamillaires. On trouve également des projections vers le thalamus, le striatum (noyau accumbens) et l'amygdale (Amaral et Witter, 2004 ; Witter et al., 1990).

Il faut souligner qu'il n'existe aucune interaction entre le subiculum et le gyrus dentelé ou encore entre le subiculum et la région CA3 de l'hippocampe. En revanche, comme nous l'avons vu plus haut, le subiculum envoie de faibles projections vers le champ CA1.

Les neurones du subiculum n'ont pas été étudiés autant que les cellules de CA1 et CA3 (Sharp et Green, 1994 ; Deadwyler et Hampson, 2004). Ils montrent cependant une sélectivité spatiale assez claire, même si elle n'est pas aussi précise que celle des neurones de CA1 et CA3 (voir chapitre 2).

Le présubiculum et le parasubiculum recevant des fibres du subiculum ont été longtemps considérés comme des structures de sortie de l'hippocampe. Cependant Witter et Amaral (2004) soulignent que, étant donné leurs connexions anatomiques, ces structures devraient plutôt être considérées comme des structures d'entrée de l'hippocampe. En effet, le parasubiculum projette sur la couche II du cortex entorhinal, (qui elle-même projette sur le gyrus dentelé et le CA3 hippocampique), et le présubiculum projette sur la couche III superficielle (qui elle-même projette sur CA1 et le Subiculum) et la couche V profonde de l'entorhinal. Le présubiculum dorsal⁵ (ou postsubiculum) est la région dans laquelle on a découvert pour la première fois les cellules de direction de la tête (Ranck, 1984 ; Taube et al., 1990). De même, dans le post et parasubiculum, des expériences ont révélé des neurones dont l'activité dépend du lieu de l'animal,

⁵ Certains chercheurs soutiennent que la partie dorsale du présubiculum est différente de la partie ventrale du présubiculum (van Groen et Wyss, 1990) sur un plan cytoarchitectonique et connectivité. Ils préfèrent donc utiliser un nom différent pour la portion dorsale, et se réfèrent au nom 'postsubiculum'. En utilisant cette convention, quand ils utilisent le nom 'présubiculum', ils ne parlent donc que de la partie ventrale.

avec des modulations en fonction de la direction de la tête (Taube, 1995 ; Sharp, 1996 ; Cacucci et al., 2004 ; Hargreaves et al., 2005). D'autres cellules sont modulées par la vitesse de l'animal, ou par la vitesse angulaire de la tête (Sharp, 1996).

Il est intéressant de noter qu'il semble y avoir une augmentation du nombre de cibles extrahippocampiques quand on va du gyrus dentelé vers le subiculum. En effet, le gyrus dentelé ne possède aucune projection extrahippocampique, la région CA3 ne possédant quant à elle qu'une seule projection vers le septum latéral. En revanche, le champ CA1 projette aussi bien vers le septum latéral que vers le cortex entorhinal et le subiculum mais encore vers diverses autres structures corticales et sous-corticales. En ce qui concerne le subiculum, il distribue des fibres aux mêmes cibles que CA1, et possède en plus d'autres cibles cérébrales (cortex préfrontal, cortex rétrosplénial, cortex périrhinal, septum, thalamus...)

1.2.3. Région parahippocampique

1.2.3.1. Le cortex entorhinal

Au cours de ma thèse, un événement marquant pour la communauté des neurosciences fut la découverte des 'cellules grille' du cortex entorhinal (Fyhn et al., 2004 ; Hafting et al., 2005). Cette découverte, une des plus importantes après celle des cellules de lieu il y a une trentaine d'années, corrobore l'hypothèse d'une représentation spatiale en amont de l'hippocampe. Cet événement a soulevé un intérêt accru pour cette structure et une meilleure compréhension de son anatomie.

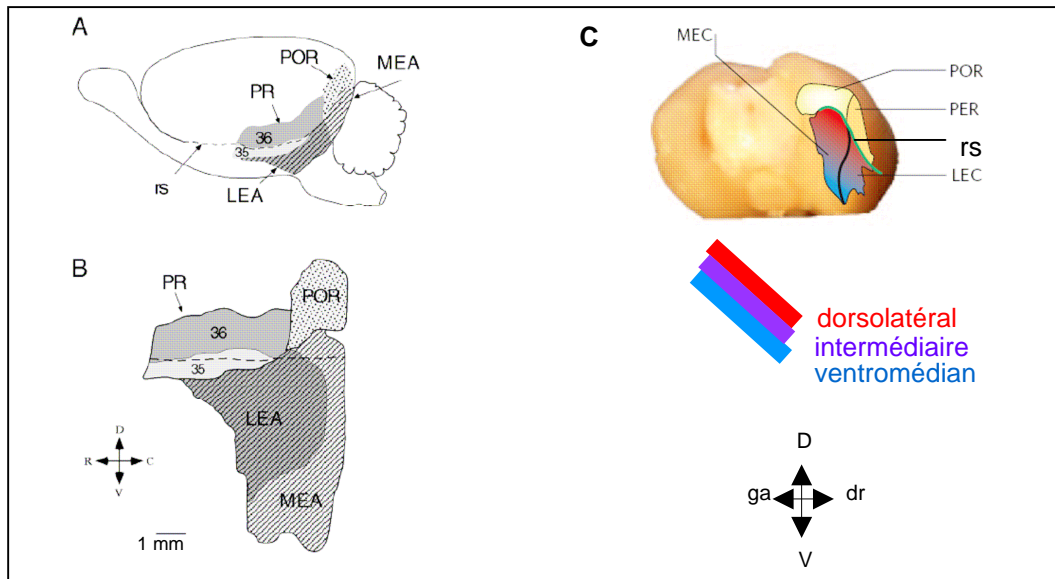


Figure 1.4. Anatomie du cortex entorhinal du cerveau de rat. A. **Vue latérale** : POR, cortex postrhinal ; PR (=PER) le cortex périrhinal inclut les aires de Brodmann 35 et 36 ; rs, scissure rhinale ; MEA, cortex entorhinal médian ; LEA, cortex entorhinal latéral ; B. **Vue dépliée** de la carte de la surface corticale montrant le POR, le PR, MEA et LEA. C. **Vue ventro-caudale**. MEC, **cortex entorhinal médian** ; LEC, **cortex entorhinal latéral**. dr, droite ; ga, gauche (d'après McNaughton et al., 2006).

Le cortex entorhinal se trouve à l'interface de l'hippocampe et du cortex parahippocampique (Burwell, 2000 ; Witter et al., 1989 ; Lavenex et Amaral, 2000). Les vues latérale et ventro-caudale du cerveau de rat nous montrent que le cortex entorhinal est situé plutôt ventro-médialement par rapport à la scissure rhinale (ligne verte), et sous les cortex postrhinal et périrhinal (figure 1.4).

Sur le plan de son organisation, le cortex entorhinal peut être décrit selon trois grands schémas d'organisation: un premier qui fait la distinction entre les couches superficielles et profondes (1), un second qui fait la distinction entre le cortex entorhinal médian (CEM) et le cortex entorhinal latéral (CEL) (2) et un troisième qui fait la distinction entre les bandes dorsolatérales et les ventromédianes (3).

1) couches superficielles vs couches profondes

Les couches superficielles du cortex entorhinal envoient des axones en direction de chaque sous région de l'hippocampe. Il reçoit en retour dans ses couches profondes des projections du CA1 et du subiculum.

2) CEL vs CEM

Selon des critères de connectivité et cytoarchitectoniques, le cortex entorhinal est subdivisé en deux sous-régions, à savoir une région latérale (CEL) et une région

médiane (CEM) (figure 1.4.). En effet, les afférences de ces deux sous-structures sont différentes. Le CEM reçoit 3 à 4 fois plus d'axones des cortex occipital, rétrosplénial, et pariétal (informations visuo-spatiales) que le CEL. Ces projections sont soit directes, soit indirectes par l'intermédiaire du cortex postrhinal (POR). De son côté, le CEL a des connexions plus importantes avec le cortex périrhinal (PER) et directement ou indirectement avec les cortex frontal, piriforme, insulaire, olfactif, et temporal (Burwell, 1998, 2000 ; Witter et Amaral, 2004) (figure 1.5).

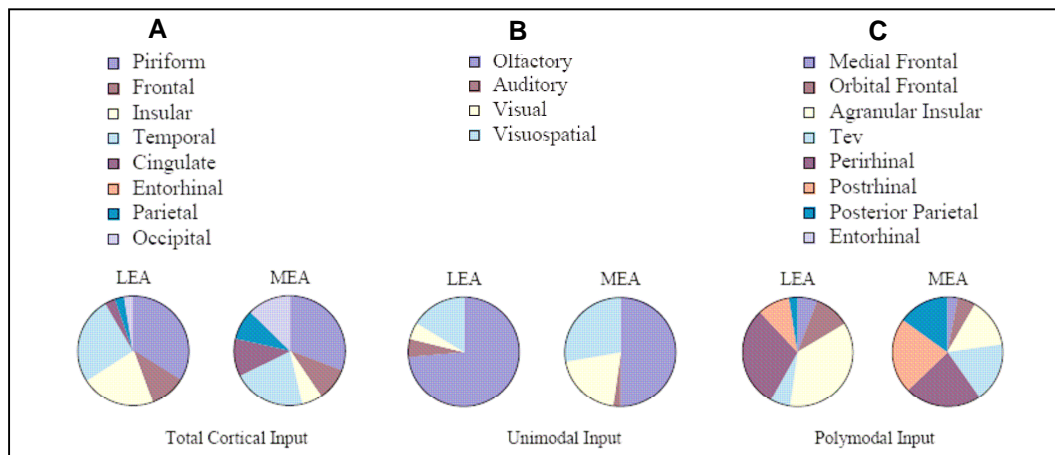


Figure 1.5. Afférences corticales des deux sous-régions du cortex entorhinal (LEA=CEL ; MEA=CEM). La méthode consiste à injecter dans les régions étudiées (ici cortex entorhinal) un marqueur rétrograde qui est véhiculé par le flux retro-axonal jusqu'aux corps cellulaires des différentes structures qui innervent le cortex entorhinal. On peut alors évaluer la densité de cellules marquées et en déduire quelles structures envoient des afférences vers les structures étudiées. **A**, proportion de l'ensemble des entrées corticales vers les régions cible MEA et LEA. **B**, proportion de l'ensemble des entrées unimodales vers les régions cible MEA et LEA. **C**, proportion des entrées polymodales vers les MEA et LEA du cortex entorhinal. D'après Burwell et Amaral, 1998.

La séparation entre les régions CEM et CEL réside aussi dans leurs efférences. Les axones de la couche superficielle II de CEM et CEL innervent différents segments dendritiques d'une même cellule dans le gyrus dentelé et dans l'aire CA3. Au contraire, les axones de la couche III superficielle de CEM et CEL ségréguent indépendamment dans le subiculum et dans CA1 (figure 1.6). Cette propriété renforce aussi la différence anatomique entre CA1 et CA3.

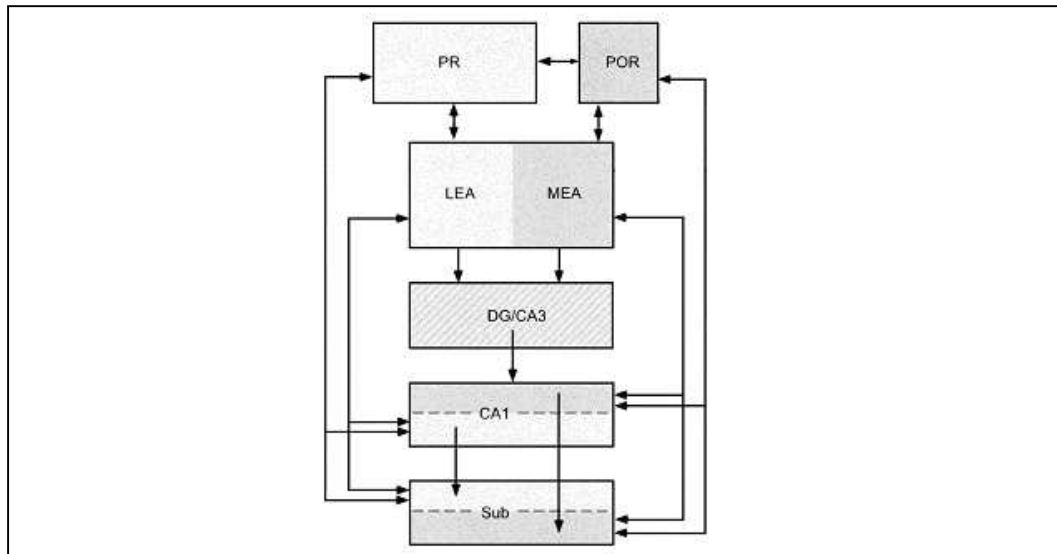


Figure 1.6. Projections vers les aires médiane et latérale du cortex entorhinal. Les efférences des deux structures du cortex entorhinal (LEA et MEA) se mélangent au niveau de DG et CA3, mais restent ségréguées au niveau de CA1 et du subiculum. Modifié d'après Burwell (2000).

Sur le plan fonctionnel, Fyhn, Molden, Witter, Moser et Moser ont montré en 2004, que les couches superficielles (celles qui innervent l'hippocampe) du CEM contiennent des cellules qui déchargent à certains endroits de l'espace. Ces cellules ont été ensuite aussi découvertes dans les couches profondes du CEM (Sargolini et al., 2006). Ces cellules sont présentes dans le cortex entorhinal médian mais pas dans le cortex entorhinal latéral.

3) Bandes dorsolatérales vs bandes ventromédianes

De façon parallèle à la dichotomie Médial/Latéral, le cortex entorhinal présente des différences de connectivité extrinsèques et intrinsèques selon un gradient allant de la bande dorso-latérale jusqu'à la bande ventro-médiane (Burwell, 2000 ; Witter et al., 1989 ; Dolorfo et Amaral, 1998 ; Dolorfo et Amaral, 1998a) (figure 1.4, à droite). La bande dorsolatérale (bande rouge sur la figure 1.4), qui jouxte les cortex postrhinaux et périrhinaux, est celle qui reçoit le plus d'entrées visuospatiales. A mesure que l'on s'éloigne de la scissure rhinale (quand le rouge devient bleu), le cortex entorhinal reçoit progressivement de moins en moins d'entrées des cortex associatifs sensoriels (dont les cortex POR et PER), mais de plus en plus de différentes aires sous-corticales, telles que l'hypothalamus et l'amygdale.

Ce gradient anatomique a des conséquences fonctionnelles pour l'hippocampe : la bande la plus dorsolatérale est la région qui fournit le plus d'entrées à la partie dorsale de l'hippocampe (Witter et al., 1989 ; Dolorfo et Amaral, 1998) dans laquelle on trouve les champs d'activité les plus précis et les plus riches en

information spatiale (Jung et al., 1994 ; Poucet et al., 1994). Les bandes intermédiaire et ventromédiane du cortex entorhinal ont de fortes connexions réciproques avec les régions intermédiaire et ventrale de l'hippocampe, qui ont des champs d'activité plus pauvres en information spatiale. L'hippocampe dorsal est donc mieux 'armé' que l'hippocampe ventral pour traiter les informations spatiales.

Si la représentation spatiale de l'animal est déjà présente au niveau du cortex entorhinal, on peut alors se demander quel peut être le rôle à jouer par l'hippocampe. Nous étudieront les spécificités de chaque type de représentation dans le chapitre 2.2 pour l'hippocampe et le chapitre 2.5 pour le cortex entorhinal.

1.2.3.2. Les Cortex Postrhinal (POR) et Périrhinal (PER)

Les PER et POR sont, comme leur nom l'indique, situés à proximité de la scissure rhinale. A l'origine, ces deux aires corticales étaient vues comme appartenant à la même structure. La frontière entre ces deux structures, longtemps sujette à controverse, ne fut clairement définie que très récemment (Burwell et al., 1995 ; Burwell, 2000 ; Burwell et Amaral, 1998).

Les efférences

Il est clairement établi aujourd'hui que, ni le PER, ni le POR ne projettent vers CA3 ou le gyrus dentelé (Canning et Leung, 1997; Naber et al., 1999). En revanche, ces deux structures donnent naissance à des projections à destination de la région CA1 et du subiculum (Naber et al., 2001a, b), et réciproquement (Kloosterman et al., 2003).

Le cortex entorhinal médian (MEC) reçoit en majorité des projections du POR, alors que le cortex entorhinal latéral (LEC) en reçoit plutôt du PER. Les PER et POR sont également connectés entre eux. A noter aussi, les connexions entre le PER et le cortex entorhinal sont beaucoup plus importantes que les connexions entre le POR et le cortex entorhinal (Burwell et Amaral, 1998).

Les afférences

Les entrées corticales des PER et POR n'ont été étudiées de manière systématique que très récemment (Burwell et Amaral, 1998).

Le PER est divisé en deux car les aires 35 et 36 reçoivent des informations corticales de nature complètement différente. L'aire 36 reçoit surtout des

informations en provenance du cortex temporal, alors que l'aire 35 reçoit surtout des connexions en provenance des cortex piriforme, entorhinal latéral et insulaire. Concernant le POR, les principales entrées, par ordre décroissant d'importance, proviennent des cortex visuel occipital, temporal, pariétal, rétrosplénial (figure 1.8). De même que pour le PER, les connexions du POR sont très largement réciproques. Les connexions sous-corticales des PER et POR sont moins bien documentées que les connexions corticales. Néanmoins, on sait que ces deux structures possèdent des connexions réciproques avec l'amygdale ainsi qu'avec les structures thalamiques.

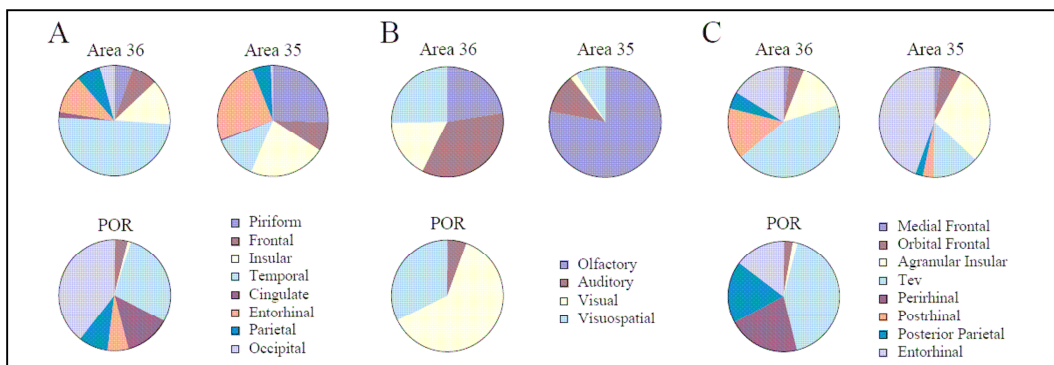


Figure 1.8. Afférences du cortex postrhinal et périrhinal (composé des aire 35 et 36). D'après Burwell et Amaral, 1998.

Résumé : voie dorsale/ voie ventrale

De façon assez schématique, le POR envoie principalement des informations vers le MEC. Le POR reçoit lui-même des projections provenant des cortex pariétal et rétrosplénial traitant les informations visuospatiales. L'axe POR-MEC s'intègre donc à la **voie 'dorsale'** appelée aussi voie pariétale (voie du 'où' chez les primates) (Mishkin et Ungerleider, 1982).

Le PER, quant à lui, envoie principalement des informations au LEC. Le PER reçoit lui-même des informations provenant du cortex temporal qui serait plutôt impliqué dans l'identification des objets ou des scènes visuelles (Barker et al., 2007 ; Devlin et Price, 2007). L'axe PER-LEC s'intègre donc à la **voie 'ventrale'** ou voie temporelle (voie du 'quoi' chez les primates) (Mishkin et Ungerleider, 1982).

Le MEC et le LEC, qui font partie de ces deux voies relativement indépendantes vont ensuite acheminer les deux types d'informations jusqu'à l'hippocampe, structure d'intégration (Burwell, 2000 ; Witter et al., 2000).

Existe-t-il déjà une représentation spatiale au niveau des PER et POR? Jusqu'à maintenant quelques neurones avec des activités corrélées à la position de l'animal ont été mis en évidence dans ces régions, surtout dans le POR. Ces

corrélats spatiaux ne seraient pas stables au cours de sessions successives d'enregistrement (Burwell et Hafeman, 2003). En revanche, d'autres expériences contredisent ces résultats et ne fournissent pas de preuve en faveur de l'existence de corrélats spatiaux dans le postrhinal (Fynh et al., 2004).

1.2.4. Différences rat / souris concernant la région hippocampique

Contrairement au rat, très peu d'études ont été dédiées à l'anatomie détaillée du cortex entorhinal et de l'hippocampe de la souris. Avec l'accroissement, au cours de ces dernières années, du nombre d'études sur le modèle de la souris transgénique, il paraît important de caractériser avec discernement ses connexions anatomiques avant de pouvoir extrapoler à la souris les résultats obtenus chez le rat. Des différences anatomiques même subtiles pourraient effectivement être à l'origine de différences importantes sur le plan fonctionnel.

Même si la souris présente une organisation générale similaire au niveau des projections entorhinales vers la formation hippocampique, les données de Van Groen et al. (2003) montrent qu'il existe tout de même quelques légères différences entre le rat et la souris. La principale différence est que CA3 est innervé par la couche III superficielle du cortex entorhinal et non plus par la couche II superficielle directement, comme chez le rat. En outre, CA1 et le subiculum demeurent innervés par la couche III (figure 1.9). Cette différence d'innervation des régions CA1 et CA3 entre le rat et la souris pourrait impliquer des différences de fonctionnement entre les deux espèces quant au traitement des informations spatiales par ces sous régions, en admettant qu'il existe une différenciation entre les couches II et III du cortex entorhinal de la souris, comparable à celle du rat.

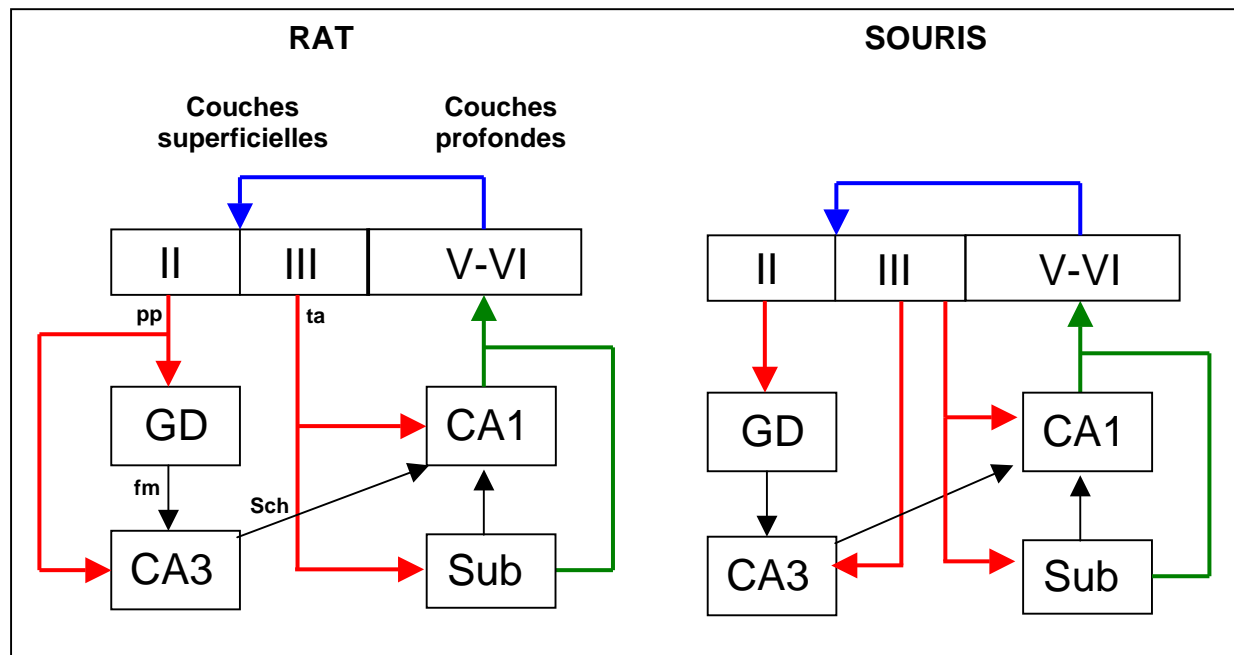


Figure 1.9. Schéma comparant les relations cortex entorhinal / hippocampe entre le rat et la souris. Chez le rat, la couche III du cortex entorhinal projette vers CA1, alors que chez la souris, la couche III projette vers CA1 et CA3. Chez le rat, la couche II projette vers le Gyrus Dentelé et CA3, alors que chez la souris la couche II projette uniquement vers le Gyrus Dentelé.
pp: voie perforante; **fm**: fibres moussues; **Sch**: collatérale de Schaffer; **ta**: voie temporo-ammonique.

1.3. Autres régions corticales impliquées dans la mémoire spatiale

Les tâches 'hippocampo-dépendantes' requièrent d'autres régions que l'hippocampe pour mener à bien l'apprentissage spatial. J'ai choisi de décrire deux d'entre elles : le cortex pariétal et le cortex préfrontal.

1.3.1. Cortex Pariétal

Assez peu d'études ont été réalisées sur la neuroanatomie des aires corticales chez le rat, mais leurs résultats sont relativement homogènes et il y a un agrément à conclure qu'il existe une aire pariétale associative qui serait analogue, voire homologue, à l'aire 7 des primates.

Le cortex pariétal reçoit des projections directes des aires visuelles primaires (Zilles, 1985) et secondaires, des aires somatosensorielles primaires et secondaires, ainsi que des aires auditives, faisant de lui une structure intégratrice multimodalitaire. Par ailleurs, il y a un important faisceau de connexions entre le cortex pariétal et les aires frontales et orbitales frontales (Miller et Vogt, 1984). Le cortex pariétal envoie des projections vers le cortex postrhinal et un peu moins vers le périrhinal (Burwell et Amaral, 1998). Ce schéma de connexions suggère

que le cortex pariétal 1) a une fonction d'association entre les diverses modalités sensorielles, 2) a des relations avec le réseau orbito-frontal impliqué dans les processus de l'attention spatiale, et 3) envoie des informations vers l'hippocampe via le cortex entorhinal et le cortex postrhinal.

Dans le cortex pariétal, connu pour jouer un rôle important dans les comportements spatiaux car appartenant à la voie dorsale du 'où', des activités corrélées à l'endroit de l'animal dans l'environnement ont été mises en évidence (Chen et Nakamura, 1998 ; Chen et al., 1994a, b ; McNaughton et al., 1994 ; Cho et Sharp, 2001).

1.3.2. Cortex préfrontal

La manière exacte dont l'hippocampe et le cortex préfrontal interagissent pour traiter des informations mnésiques reste encore à élucider, mais il a été montré que ces deux structures sont fortement interconnectées, grâce en partie, au nucleus reuniens du thalamus médian.

Plusieurs études ont montré l'existence d'une projection directe de la formation hippocampique (région CA1 de l'hippocampe ventral) vers le cortex préfrontal médian (Swanson, 1981 ; Ferino et al., 1987 ; Jay et al., 1989 ; Jay et Witter, 1991). Il n'existe en revanche, aucune étude montrant l'existence d'une connexion réciproque directe:

Unlike other neocortical areas such as the perirhinal or entorhinal cortices, which are reciprocally connected to the hippocampus (Witter et al., 1989), area CA1 and subiculum do not, in return, receive direct projections from the prefrontal cortex in the rat (Laroche et al., 2000).

Selon des sources récentes, il apparaît que le nucleus reuniens constitue la voie la plus directe de transmission d'information entre le cortex préfrontal médian et l'hippocampe, et jouerait potentiellement un rôle d'interface majeur entre ces deux structures.

Ainsi, le cortex préfrontal est particulièrement associé à l'hippocampe ventral. Il serait donc plausible d'y trouver des cellules avec des corrélats spatiaux. Effectivement, il a récemment été mis en évidence que les neurones du cortex préfrontal présentent des corrélats spatiaux, lorsque l'animal est engagé dans une tâche de navigation (Hok et al., 2005). Il est important de souligner que l'activité spatiale apparaît uniquement lorsque l'animal est en train de réaliser une tâche impliquant la recherche d'un but et non pas dans une simple tâche d'exploration spontanée. La modulation spatiale de l'activité de ces neurones pourrait donc être la traduction cellulaire d'un codage des buts de l'animal.

S'il est indiscutable que l'hippocampe est impliqué de manière importante dans le traitement spatial, de nombreuses autres régions participent, de manière spécifique, à ce traitement complexe. Ainsi, comme nous l'avons vu, parmi les structures connectées directement à l'hippocampe ou indirectement par l'intermédiaire d'autres structures, nombre d'entre elles possèdent des neurones avec des activités modulées spatialement et sont donc à ce titre, elles aussi, impliquées dans le circuit de la mémoire spatiale (figure 1.11). Bien sûr, il existe des différences importantes dans la nature précise de la décharge spatiale (voir chapitre 2.7) entre ces régions et l'hippocampe (et entre les régions), mais il est désormais sûr que le traitement de l'espace n'est pas l'apanage de l'hippocampe.

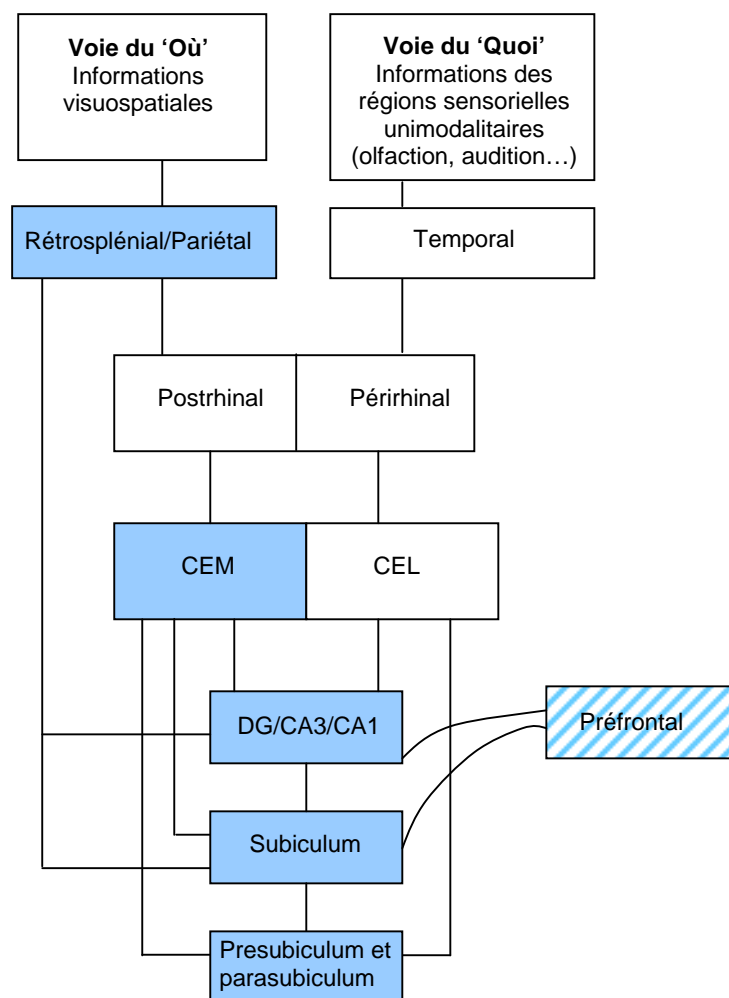


Figure 1.11. Schéma simplifié des régions cérébrales étudiées dans ce chapitre. Toutes les connexions ne sont pas représentées. Les régions en bleu sont celles dans lesquelles on a trouvé une activité neuronale spatio-sélective. Les hachures bleues signifient que, sous certaines conditions expérimentales, une activité spatiale a pu être mise en évidence (dans le cortex préfrontal, les cellules montrent des corrélats spatiaux reliés au but). Modifié d'après Knierim, 2006.

Chapitre 2

Les bases cellulaires de la mémoire spatiale

Ce chapitre aborde une question centrale dans l'étude de l'hippocampe : quelle information est représentée dans l'activité électrique hippocampique ? Il existe deux niveaux de codage de l'information au niveau de l'hippocampe. D'une part, le système nerveux peut être perçu comme un large ensemble de neurones individuels, qui interagissent par leurs axones. Le codage de l'information à l'échelle de la cellule est reflété par le codage de lieux spécifiques par les cellules pyramidales hippocampiques (cellules de lieu). D'autre part, le système peut être envisagé comme une entité organisée selon des principes plus holistiques, dans lequel un nombre important de neurones agissent de concert. Le codage de l'information par des assemblées de cellules est reflété par l'émergence d'une activité synchrone pouvant être visualisée sous la forme de potentiels de champs locaux (LFP, rythme thêta...). Je m'intéresserai dans ce chapitre à l'étude du codage de l'information par les cellules individuelles.

2.1. Introduction

L'hypothèse des représentations spatiales a rapidement été étayée par des découvertes concernant leur support neuronal. Bien que l'on sache aujourd'hui que de nombreuses aires cérébrales sont impliquées dans la genèse et l'utilisation de ces représentations, l'hippocampe occupait et occupe toujours malgré tout une place privilégiée dans ce domaine de recherche. Les raisons de l'importance accordée à cette structure proviennent d'un faisceau d'arguments convergents. Une littérature pléthorique montre d'abord que des lésions hippocampiques chez le rat induisent des déficits massifs dans les tâches mettant en jeu l'utilisation des informations spatiales (Par exemple, O'Keefe et al., 1975 ; Morris et al., 1982 ; Sutherland et al., 1982 ; Barnes et al., 1988 ; Poucet et Benhamou, 1997). Cependant, l'argument essentiel en faveur de la fonction spatiale de l'hippocampe s'appuie sur l'existence de 'cellules de lieu'. Dans les années 70, O'Keefe et Dostrovsky ont alors l'idée d'implanter une électrode dans l'hippocampe dorsal chez le rat. Leur approche technique est révolutionnaire car elle permet l'enregistrement en chronique de l'activité extracellulaire d'un seul neurone alors que l'animal se déplace normalement dans son environnement. Non seulement les problèmes de stabilité des signaux ont été résolus mais, qui plus est, le système d'électrodes peut être déplacé verticalement par l'expérimentateur, de manière à ce

que la pointe des fils d'enregistrement traverse progressivement l'hippocampe dans toute son épaisseur dorso-ventrale. Ces auteurs recherchent une activité neuronale qui serait en rapport avec des processus mnésiques mais trouvent, en fait, que la décharge de certaines cellules est corrélée à la position de l'animal dans l'environnement. Ces neurones, appelés cellules de lieu émettent des potentiels d'action lorsque la tête de l'animal se trouve dans certaines régions restreintes du dispositif expérimental (champ d'activité de la cellule), mais restent silencieux quand la tête se trouve en dehors de cette zone. En outre, l'activité de ces cellules est indépendante de la direction de la tête de l'animal. Cette propriété fonctionnelle sera confirmée peu après par d'autres équipes (Ranck, 1973).

Pour O'Keefe et Dostrovsky, dès 1971, l'activité de ces cellules reflète l'existence d'une représentation allocentrée de l'environnement, appelée carte cognitive, telle que l'avait proposée Tolman en 1946:

“rats with hippocampal damage are reported to be [...] poor at spatial tasks such mazes[...] These deficits could be due to the loss of the neural system which provides the animal with a cognitive, or spatial map⁶ of its environment”.

O'Keefe et Nadel en 1978, dans l'ouvrage devenu référence dans le domaine, « *Hippocampus as a cognitive map* », développeront l'hypothèse que l'hippocampe code pour une représentation interne ou une carte de l'espace définie dans un référentiel allocentré.

Malgré, les réticences de la communauté scientifique à accepter la réalité du phénomène des cellules de lieu, cette découverte a constitué l'amorce d'un développement extraordinaire des études sur le rôle de l'hippocampe⁷. Ainsi, les données électrophysiologiques associées aux données lésionnelles (Olton et al., 1978 ; Morris et al., 1982 ; Nadel, 1991) étayent considérablement l'idée que, chez le rat, l'hippocampe serait la structure-clé responsable du traitement des informations spatiales.

Treize ans après la première étude sur les cellules de lieu, James B. Ranck Jr. (Ranck, 1984) découvre la seconde grande classe de cellules dont l'activité est spatialement modulée : les cellules de direction de la tête⁸. Ces cellules de

⁶ O'Keefe et Dostrovsky citent ici Tolman qui décrivait en 1948 : « Cognitive maps in man and animals », papier dans lequel on peut trouver les concepts anticipateurs d'une carte cognitive mentale, bien avant la découverte des cellules de lieu, le substrat neuronal de cette carte.

⁷ La base de donnée Pubmed donne accès à environ 50 000 références correspondant au mot clef 'Hippocampus' depuis 1971.

Pour les mots clef 'Place cells' and 'Hippocampus', il y 179 références depuis 37 années, soit en moyenne 5 publications par an.

⁸ Pour les mots clef 'Head direction cells' and 'Hippocampus', la base de donnée Pubmed donne accès à environ 76 références depuis 24 années, soit en moyenne 3 publications par an sur le sujet.

direction ont été initialement découvertes dans les couches profondes du présubiculum dorsal (postsubiculum), et possèdent la particularité d'être actives quand l'animal oriente sa tête dans une direction particulière du plan horizontal de l'espace, quel que soit son propre emplacement dans l'environnement.

Trente trois ans après la découverte des cellules de lieu et vingt ans après celle des cellules de direction de la tête, Fyhn, Molden, Witter, Moser et Moser découvrent en 2004 dans le cortex entorhinal médian (plus précisément dans la couche superficielle de la partie dorso-caudale de la bande dorso-latérale), des cellules qui présentent une activité spatio-sélective importante, qui se distingue des autres activités déjà décrites dans la littérature. Quelques mois plus tard, l'équipe (Hafting et al., 2005) les baptisera les 'cellules grille'. Ainsi, la structure d'entrée de l'hippocampe contiendrait déjà une carte de l'environnement. Cette grande découverte est bien évidemment en train de bousculer le dogme qui faisait de l'hippocampe la structure centrale de la représentation de l'espace.

Même si, tout comme l'étude des cellules de lieu, l'étude des cellules grille sera au début l'apanage d'un nombre restreint de laboratoire, cette découverte a le potentiel d'avoir d'aussi grandes répercussions que les cellules de lieu ou les cellules de direction sur l'effervescence et l'enthousiasme de la communauté scientifique⁹.

Ces trois réseaux véhiculent des informations complémentaires dont la combinaison permet d'assurer le traitement global des informations spatiales. L'élucidation de ces interactions repose, avant tout, sur une meilleure compréhension de chacun des trois systèmes. Dans ce chapitre, je passerai donc en revue les principales propriétés de la décharge ainsi que les déterminants sensoriels de l'activité des cellules de lieu, des cellules de direction et des cellules grille.

⁹ Pour les mots clef 'Grid cells' and 'Hippocampus', la base de données donne accès à environ déjà 18 références depuis 3 années, soit en moyenne 6 papiers par an.

2.2. Cellules de lieu

2.2.1. Propriétés

Après 40 ans de recherche et des centaines d'études sur le modèle des cellules de lieu, il est possible d'établir certaines de leurs caractéristiques essentielles.

Les cellules de lieu sont des neurones pyramidaux. Elles se trouvent dans les champs CA1 et CA3 de l'hippocampe dorsal (O'Keefe et Dostrovsky, 1971) et de l'hippocampe ventral (Poucet et al., 1994 ; Jung et al., 1994). Néanmoins, au niveau ventral, la spécificité spatiale de l'activité est plus faible que celle enregistrée au niveau dorsal. On trouve aussi des neurones avec une décharge corrélée à l'emplacement de l'animal dans d'autres parties de la formation hippocampique (Gyrus dentelé : Jung et McNaughton, 1993 ; complexe subiculaire : Sharp et Green, 1994 ; Deadwyler et Hampson, 2004), mais le terme de cellules de lieu est consacré aux cellules principales de CA3 et CA1.

Les cellules de lieu présentent un faible taux de décharge (de l'ordre de 0 à 1 Potentiel d'Action/s), lorsque l'animal se déplace dans la plus grande partie de l'environnement, mais ce taux de décharge s'accroît considérablement (jusqu'à 20 ou plus PA/s) lorsque l'animal se trouve dans le champ d'activité. Elles déchargent par bouffées de deux à sept potentiels d'action avec des intervalles 'interspike' variant de 1.5 à 6 ms, durant lesquelles l'amplitude des potentiels émis décroît (Ranck, 1973) (figure 2.1.a).

Les premiers à avoir enregistré un nombre conséquent de cellules hippocampiques simultanément sont Wilson et McNaughton en 1993 (figure 2.1.b). Ils sont donc les premiers à s'être penchés sur l'activité spatiale hippocampique à l'échelle de la population. L'enregistrement simultané de plusieurs cellules montre que l'environnement est "couvert" par des champs d'activité : il n'y a pas de "trous". L'échantillon de cellules enregistrées simultanément dans cette étude ne correspond cependant pas à l'intégralité des cellules de lieu réellement actives dans un environnement. Il existe environ 1.000.000 de cellules pyramidales (Muller et al., 2001). La proportion des cellules pyramidales de CA1 spatialement sélectives dans un environnement donné est de l'ordre de 30 à 50% (Wilson et McNaughton, 1993), soit environ 300 000 cellules actives pour coder un même environnement.

Les champs ont donc des zones de recouvrement plus ou moins larges entre eux (Hampson et al., 1996). Cette redondance apparente¹⁰ est en fait une

¹⁰ D'après un modèle de Wilson et McNaughton en 1993, seulement 60 cellules de lieu suffiraient à prédire la position de l'animal dans un environnement (type arène 40x40cm) avec un degré de précision de 1cm.

caractéristique fondamentale du système des cellules de lieu car cela signifie que chaque lieu de l'espace correspond à l'activation non d'une seule cellule mais d'une population spécifique de cellules (réseau de neurones). Lorsque l'animal se déplace, la configuration de l'activation se modifie de manière continue (dynamique), certaines cellules s'arrêtant de décharger, d'autres maintenant leur activité et de nouvelles cellules se mettant à décharger. Le passage entre deux lieux se traduit au niveau des assemblées de neurones par une transition entre deux configurations d'activation distinctes. Ainsi, le codage de population permet non seulement de spécifier l'endroit où se trouve l'animal (activation d'une population à un moment donné) mais également de spécifier les déplacements entre des lieux particuliers de l'environnement (transitions entre des configurations d'activation différentes). Finalement, à l'échelle de la population neuronale, l'activité des cellules de lieu serait la traduction électrophysiologique de la représentation des positions de l'animal.

Les champs proches ne proviennent pas forcément de la décharge de cellules anatomiquement proches. Contrairement à la carte topographique des champs récepteurs visuel (Hubel et Wiesel, 1959), la carte des champs dans l'environnement ne correspond en rien à la carte des cellules de lieu dans l'hippocampe. Il n'y a donc pas de correspondance entre l'organisation topologique des cellules de lieu et la topologie de l'environnement (O'Keefe et al., 1998). C'est pourquoi il est plus juste de définir l'hippocampe de rongeur comme étant le siège d'une 'carte cognitive' plutôt que comme étant celui d'une carte topographique.

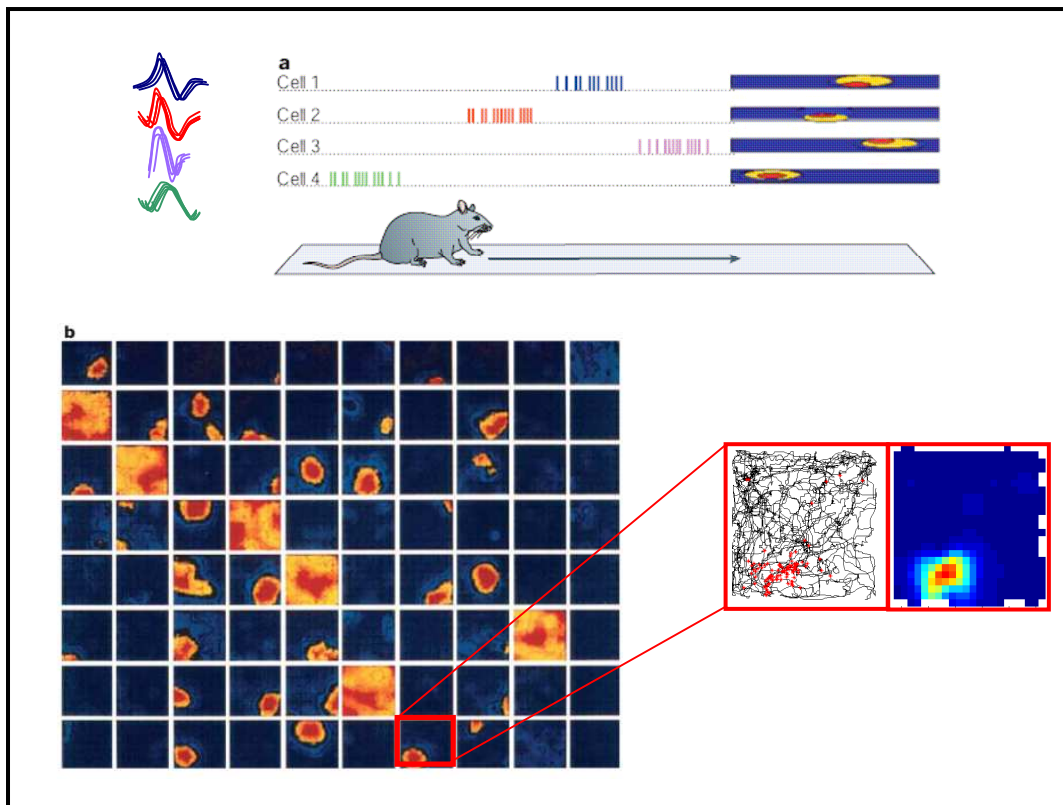


Figure 2.1. Cellule de lieu et représentation du champ d'activité. **a.** Cette figure représente schématiquement les propriétés de sélectivité spatiale des cellules pyramidales de l'hippocampe alors que l'animal se déplace librement dans une allée rectiligne. A gauche, chaque cellule enregistrée a une signature électrophysiologique unique et reproductible comme le montrent les formes des potentiels d'action des cellule 1, 2, 3, 4. Au centre, chaque cellule décharge à un endroit bien spécifique de l'allée rectiligne. A droite, chaque champ d'activité est représenté par une carte de fréquence d'activité. Chaque carte représente une vue de dessus de l'environnement avec des zones de haute fréquence de décharge (de rouge à jaune) et des zones de non activité (bleu). **b.** Cette figure représente les 80 cartes de fréquence d'activité représentant les 80 cellules enregistrées simultanément dans la région CA1 de l'hippocampe dorsal, lorsque le rat explore une arène carrée (40x40cm). La plupart des cellules sont 'silencieuses', avec 40% de cellules pyramidales actives dans cet environnement. Les 6 cellules qui déchargent sur l'ensemble de l'arène sont des interneurons. La figure de droite montre un agrandissement de l'activité d'une cellule particulière : à droite de cette figure, c'est le champ d'activité de la cellule et à gauche, c'est la trajectoire (en noir) avec les potentiels d'action superposés (points rouges). Modifiée d'après Wilson et McNaughton, 1993.

Une autre propriété fondamentale des cellules de lieu est l'absence de modulation de l'activité en fonction de la direction de la tête, autrement dit le neurone décharge de la même manière quelle que soit la direction dans laquelle l'animal traverse le champ d'activité (Figure 2.2).

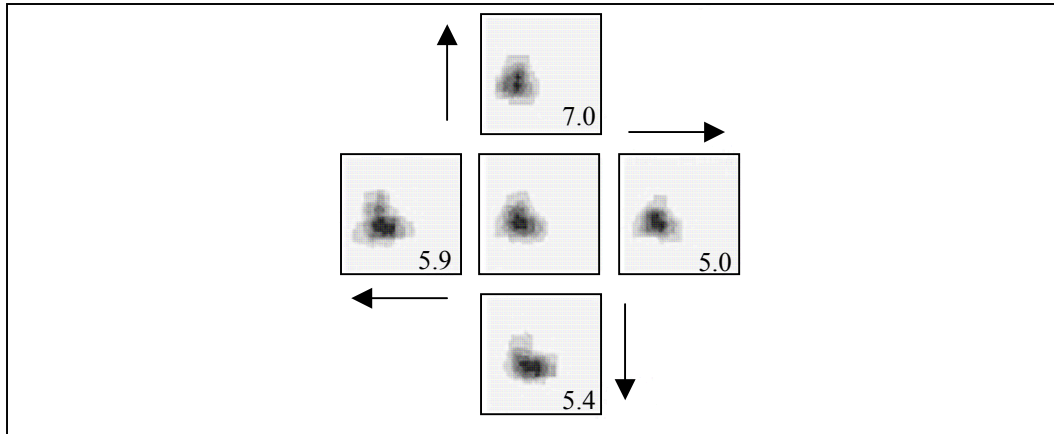


Figure 2.2. « Omnidirectionnalité » de la décharge d'une cellule de lieu. Au centre, la carte d'activité montre la décharge globale de la cellule, quelle que soit la direction du mouvement de l'animal dans le champ. Autour, les quatre autres cartes représentent la même cellule, mais la décharge a été représentée en considérant à chaque fois une seule direction de déplacement : vers le nord (carte du haut), vers le sud (carte du bas), vers l'ouest (carte de gauche), vers l'est (carte de droite). Notez que la cellule décharge au bon endroit et avec la même fréquence, indépendamment de la direction du mouvement de l'animal (en bas, à droite de chaque carte de fréquence d'activité, le pic de fréquence de décharge de la cellule est mentionné). D'après O'Keefe et al., 1998.

La question de l'absence ou de l'existence d'une composante directionnelle a fait cependant l'objet d'une discussion vive car dans les espaces fortement structurés, comme le labyrinthe radial (McNaughton et al, 1983 ; Muller et al., 1994 ; Markus et al. 1995), le labyrinthe en Y (Lenck-Santini et al., 2001) ou l'allée rectiligne (O'Keefe et Recce, 1993 ; Gothard et al., 1996), une directionnalité de l'activité apparaît (figure 2.3). Dans la situation d'un environnement ouvert, chaque cellule décrirait un endroit de l'espace, tandis qu'en environnement structuré, la cellule désignerait plutôt un ordre sur le chemin linéaire.

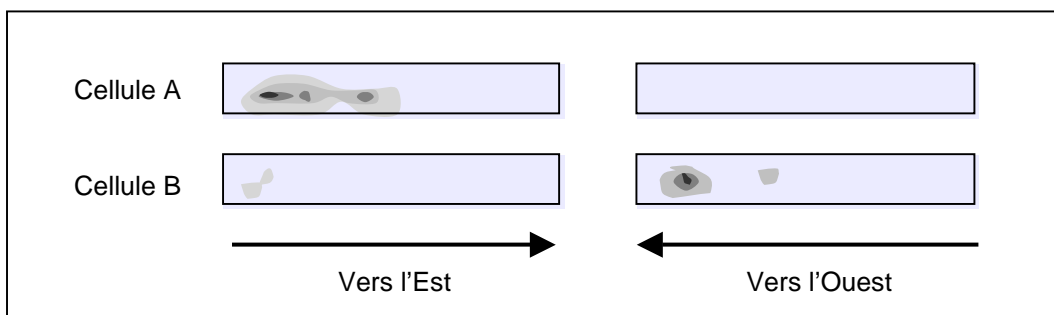


Figure 2.3. Champs d'activité de deux cellules enregistrées simultanément alors que le rat effectue des aller-retour sur un couloir de 1m50 de long pour obtenir une récompense à chaque extrémité de bras. La cellule A décharge lorsque l'animal va de la gauche vers la droite, et ne décharge pas dans la direction opposée. La cellule B ne décharge que lorsque l'animal va de la droite vers la gauche. Les pics d'activité sont représentés en noir. Adapté d'après O'Keefe, 1993.

Une autre population neuronale présente dans l'hippocampe est celle des interneurons. Il s'agit d'une classe de cellules qui ne présente pas les mêmes caractéristiques électrophysiologiques que les cellules pyramidales. La forme et la durée du potentiel d'action des interneurons diffèrent des cellules de lieu et le taux moyen de décharge est nettement plus élevé pour les interneurons que pour les cellules de lieu, allant parfois jusqu'à 50 PA/s. L'activité de ces interneurons n'est pas corrélée de façon prépondérante à la position de l'animal. En revanche, elle est modulée nettement par le rythme thêta, qui est lui-même modulé par le comportement locomoteur de l'animal (McFarland et al., 1975 ; Slawinska et Kasicki, 1998). De ce fait, on les appelle les cellules thêta (Ranck, 1973) (figure 2.1.b).

2.2.2. Distribution et forme des champs d'activité

Une cellule de lieu présente généralement un seul champ de lieu dans un environnement ouvert et relativement simple, comme une arène circulaire ou carré, mais dans des dispositifs plus complexes, comme les labyrinthes radiaux, il n'est pas rare de trouver des cellules possédant plusieurs champs d'activité (Muller et al., 1994).

Les champs peuvent être de forme et de taille extrêmement variées, ces deux aspects étant directement dépendants de la structure du dispositif et de la position du champ à l'intérieur de ce même dispositif (Muller et Kubie, 1987 ; O'Keefe et Burgess, 1996). De même, la proximité d'objets influe sur la fréquence de décharge des cellules de lieu : les cellules dont les champs sont proches des objets ont une fréquence de décharge plus élevée que les cellules dont le champ est éloigné (Olypher et al., 2002).

Lorsqu'on enregistre plusieurs cellules, les champs d'activité semblent se répartir de façon homogène dans un environnement donné (Muller et al., 1987), mais lorsqu'on étudie plus précisément la question, les champs semblent être plus nombreux à proximité des parois du dispositif et des indices présents (Hetherington et Shapiro, 1997).

2.2.3. Contrôle sensoriel de l'activité des cellules de lieu

L'une des premières questions qui a alimenté les recherches sur les cellules de lieu a été de connaître quelles sont les informations qui permettent à la cellule d'identifier un lieu particulier et qui, par conséquent, contrôlent son activité ? Il est encore difficile aujourd'hui d'expliquer *why they [place cells] fire where they*

fire (O'Keefe et Conway, 1978) et d'isoler le stimulus nécessaire et suffisant capable de contrôler une réponse des cellules de lieu. Néanmoins, tentons ici de passer en revue les entrées sensorielles les plus pertinentes à la construction et au maintien de l'activité des cellules de lieu.

Rôle de la vision

Le premier travail visant à explorer de manière spécifique le contrôle sensoriel de l'activité des cellules de lieu est celui de O'Keefe et Conway (1978). Ces auteurs ont enregistré l'activité des cellules de lieu alors que l'animal devait se rendre dans un bras particulier d'un labyrinthe en forme de T. Les indices disponibles pour guider l'animal vers le but étaient un ensemble d'objets et d'indices de nature différente placés autour du dispositif. Ce travail montre pour la première fois qu'une rotation complète des indices (en l'absence de l'animal) entraîne une rotation équivalente des champs d'activité. Ceci étant, la multiplicité et la diversité des indices est un obstacle à une étude rigoureuse du contrôle de l'activité des cellules de lieu. C'est pour cela que Muller et Kubie (1987), ont développé une tâche expérimentale beaucoup plus simple, qui est aujourd'hui communément utilisée pour l'enregistrement unitaire d'un animal libre de ses mouvements. Dans cette tâche, l'animal se déplace dans une arène circulaire (76 cm de diamètre) qui se trouve isolée visuellement du reste du laboratoire par un rideau circulaire opaque. Il s'agit donc d'un environnement contrôlé. Le seul repère mis à la disposition des rats est une grande carte blanche (couvrant 100° d'angle) fixée sur la paroi du cylindre. Pour contraindre l'animal à se déplacer en permanence dans le cylindre, ce qui est essentiel pour arriver à un échantillonnage correct de tous les lieux de l'environnement, on l'entraîne à rechercher des granulés de nourriture qui tombent au hasard dans l'arène depuis un distributeur fixé au plafond. Dans cette expérience, les auteurs montrent que si on déplace l'indice de 90° sur la paroi de l'arène (et en absence de l'animal), on observe la rotation du champ d'activité équivalente à celle de l'indice une fois l'animal réintroduit dans l'arène. Les relations spatiales entre le champ d'activité et l'indice sont donc conservées (figure 2.4). La différence entre ces deux protocoles permet de mettre en évidence un aspect important d'une des propriétés des cellules de lieu : le contrôle des champs de lieu par les indices environnementaux ne dépend pas des aspects motivationnels ou attentionnels de la tâche.

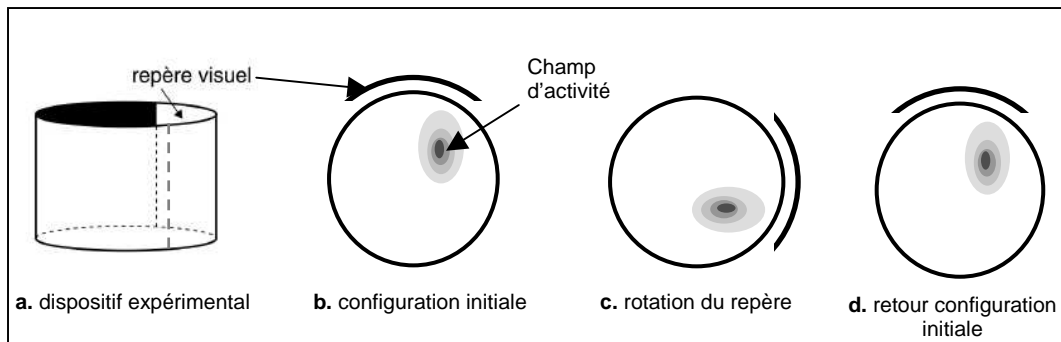


Figure 2.4. Le seul indice dont dispose l'animal est une feuille blanche cartonnée (carte), sur la paroi du dispositif expérimental. **b.** Après avoir enregistré l'activité d'une cellule hippocampique, l'animal est déconnecté et retiré du dispositif. **c.** L'expérimentateur tourne alors la carte de 90° et réintroduit l'animal. L'activité de la même cellule est enregistrée dans ces nouvelles conditions, et on peut observer la rotation du champ d'activité équivalente à celle de l'indice. **d.** L'indice est repositionné dans sa position standard en l'absence de l'animal : le champ d'activité fait de nouveau une rotation équivalente à celle de l'indice. D'après Muller et Kubie, 1987.

De la même manière, la rotation de trois objets tridimensionnels placés contre la paroi va systématiquement être accompagnée par une rotation correspondante de la position des champs d'activité. En revanche, lorsque les objets occupent une position plus centrale dans le dispositif, ce contrôle disparaît : la position des champs d'activité devient indépendante de la position des objets, comme si ceux-ci n'étaient pas utilisés par le système hippocampique pour l'ancrage positionnel de l'activité unitaire (Cressant et al., 1997). Une autre étude de Cressant et al. (1999) a permis de préciser que la configuration géométrique des objets dans l'arène avait aussi une importance notable sur le contrôle des champs d'activité : les champs sont mieux contrôlés par une configuration d'objets définissant un triangle isocèle plutôt qu'un triangle équilatéral. En effet, la configuration équilatérale est caractérisée par la présence de plusieurs axes de symétrie rendant ambiguë la discrimination spatiale si les caractéristiques intrinsèques des objets ne sont pas prises en compte. La distribution asymétrique dans l'espace des repères formant un triangle isocèle, au contraire, permettrait un meilleur ancrage de la décharge positionnelle des cellules de lieu (figure 2.5).

Le résultat qui émerge de ce travail et de nombreux autres travaux conduits dans cette optique est que les indices de l'environnement les plus efficaces sont ceux qui « polarisent » l'espace. La polarisation de l'espace, qu'elle soit créée par la disposition asymétrique des repères ou par leur éloignement, génère une anisotropie qui permet d'extraire des informations directionnelles.

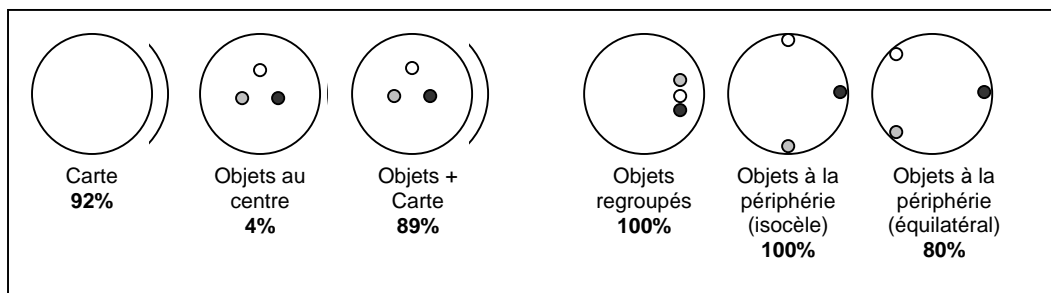


Figure 2.5. Résumé du contrôle de l'activité spatiale par les indices de l'environnement d'après les données de Muller et Kubie (1987), et de Cressant et al. (1997, 1999). Le pourcentage représente la proportion de champs d'activité dont la position est prédite par la position des indices. L'arc de cercle représente la carte indice et les petits cercles de couleurs représentent des objets distincts. La situation qui se différencie de façon marquante de toutes les autres est celle où les objets sont placés au centre du dispositif.

Rôle des informations non visuelles et idiothétiques

Le champ d'activité qui s'établit dans un environnement, est capable de persister plusieurs minutes après le retrait des indices visuels provenant de l'environnement (O'Keefe et Speakman, 1987), ou encore après une privation visuelle (obscurité, énucléation ou lésion du cortex visuel) (Quirk et al., 1990 ; Markus et al., 1994 ; Jeffery et O'Keefe, 1999 ; Save et al., 1998 ; Save et al. 2000). Cela suggère que cette stabilité repose sur l'utilisation d'autres indices que ceux d'origine visuelle, en particulier, des indices d'origine vestibulaire et proprioceptive (idiothétiques) liés à ses déplacements, ou encore les informations tactiles et olfactives (allothétiques). Dans la littérature, on ne trouve que très peu de données sur l'implication des informations auditives et olfactives. Ces informations ne semblent pas, seules, permettre à l'animal d'élaborer et de maintenir une représentation spatiale (Lavenex et Schenk 1997 ; Rossier et al., 2000).

L'hypothèse d'un rôle des informations idiothétiques s'est développée à partir d'une étude *princeps* dans laquelle les auteurs ont enregistré l'activité des cellules de lieu lors de l'extinction de la lumière au cours d'une session d'enregistrement (Quirk et al., 1990). Malgré l'obscurité, les champs d'activité restent stables, ce qui permet aux auteurs de conclure que les animaux utilisent les informations idiothétiques pour permettre la stabilité des champs. En outre, cette étude ne permet pas de déterminer si la stabilité des champs est due aux indices olfactifs/tactiles ou aux informations idiothétiques relatives au mouvement de l'animal, ou aux deux. Un moyen de tester cette hypothèse serait d'enregistrer l'activité des cellules de lieu pendant un temps beaucoup plus long dans l'obscurité totale en retirant les indices olfactifs. En effet, on peut prédire que si les animaux utilisent les informations idiothétiques seules, les champs devraient devenir instables au bout d'un certain laps de temps, en raison de l'accumulation des erreurs, inhérentes au système d'intégration des trajets. Save et al. (2000) lèvent les

ambiguïtés de cette étude dans un travail qui montre que la suppression des informations olfactives dans l'obscurité perturbe la stabilité des champs de réponse, ce qui suggère que les informations olfactives, en l'absence d'informations visuelles, jouent un rôle important dans le contrôle de l'activité des cellules de lieu. De plus, le fait de supprimer les entrées visuelles (extinction de la lumière et retrait de l'indice) provoque l'arrêt de l'activité de la moitié des cellules de lieu. En conséquence, et contrairement à ce qui avait été décrit par Quirk et al. (1990), les seules informations idiothétiques dans cette expérience ne semblent pas suffire à compenser l'absence d'informations visuelles et olfactives et à maintenir ainsi la stabilité des champs de réponse. Ce qui ne signifie pas bien entendu que les informations idiothétiques ne sont pas utilisées. Il est probable que pour naviguer dans l'obscurité, l'animal utilise de manière complémentaire les informations idiothétiques et les informations olfactives. Cette hypothèse est étayée par une autre étude dans laquelle les cellules de lieu chez des rats ayant une lésion au niveau du cortex visuel ont des champs d'activité qui restent stables malgré le retrait des objets qui polarisent l'arène circulaire dans l'obscurité (Paz Villagràn et al., 2002).

Afin d'isoler plus précisément la contribution des signaux vestibulaires 'purs' (en l'absence de signaux moteurs pouvant mettre à jour les décharges hippocampiques de position) à la construction d'une représentation spatiale, Gavrilov et al. (1998), ont mis des rats éveillés en contention sur un robot mobile piloté par ordinateur et ont appliqué des stimuli inertiels aux animaux (accélérations linéaires et angulaires). Lorsque le rat est déplacé passivement, les neurones hippocampiques présentent des réponses sélectives à certains endroits de l'espace. Sans retirer l'animal, le robot est ensuite déplacé dans l'obscurité. Dans l'obscurité, les cellules continuent à décharger pour les mêmes lieux. Néanmoins, les champs d'activité sont beaucoup plus étendus que ceux trouvés chez les rats libres de leurs mouvements. Ces résultats indiquent que les cellules de lieu reçoivent bien des informations vestibulaires, et qu'elles sont importantes et même suffisantes pour la stabilité des représentations spatiales. Cette conclusion semble aller néanmoins à l'encontre des résultats de Save et al. (2000), excepté si on considère que ces deux expériences ne sont pas comparables en de nombreux points. Dans l'expérience de Gavrilov et al. (1998), les animaux assoiffés étaient toujours récompensés lorsque le robot conduisait le rat vers un repère saillant de l'environnement, alors que dans l'expérience de Save et al., la récompense tombait aléatoirement dans l'arène: la différence dans l'état motivationnel et attentionnel de l'animal pourrait suffire à expliquer la non cohérence des résultats (Kentros et al., 2004).

Les informations tactiles ont aussi leur importance dans le contrôle de l'activité des cellules de lieu. Une autre étude de Save et al. (1998), montre que chez des rats aveugles à la naissance, la rotation (en l'absence du rat) de trois objets distincts placés contre la paroi et formant un triangle isocèle s'accompagne d'une rotation équivalente des champs d'activité. Les rats sont capables d'utiliser les objets présents de l'environnement comme repères (aucune information olfactive n'est en effet laissée dans l'arène entre deux sessions d'enregistrement). Ce résultat permet de formuler deux points importants : 1) les rats sont capables d'identifier les objets sur la base de leurs caractéristiques propres, non visuelles, afin de calculer et de réactualiser leur position dans l'environnement, 2) les rats sont capables d'utiliser le système d'intégration des trajets pour assurer la stabilité des champs d'activité lors d'un déplacement entre deux objets.

Conflit de repères : un révélateur de flexibilité

Un nombre important d'études a suggéré que les cadres de référence allocentré et égocentré interagissent pour contrôler la localisation des champs d'activité. Gothard et collaborateurs (Gothard et al., 1996), ont enregistré les cellules de lieu alors qu'un rat était entraîné à faire des aller-retour sur un couloir, entre une boîte de départ et une position récompensée à un endroit fixe. Au moment de l'aller vers le but, la boîte de départ pouvait être déplacée à une des cinq positions possibles sur le couloir, de telle sorte qu'après avoir obtenu la récompense, le rat retourne à la boîte qui est au nouvel endroit. Au cours de la sortie suivante vers le but, cette manipulation environnementale conduit à un conflit entre la position de l'animal estimée selon l'intégration du trajet et celle donnée par sa position actuelle par rapport aux repères environnementaux. Gothard et al. montrent que les champs d'activité situés dans la partie initiale du trajet de sortie de la boîte sont contrôlés par l'intégration du trajet (par rapport à la boîte de départ), alors que les champs d'activité situés en partie finale du trajet sont contrôlés par les indices externes (figure 2.6). Pour des champs d'activité en situation intermédiaire, les auteurs montrent que les champs peuvent être d'abord contrôlés par l'intégration du trajet, et ensuite par les repères de l'environnement. Cette étude révèle l'interaction flexible des deux cadres de référence pour le contrôle des cellules de lieu.

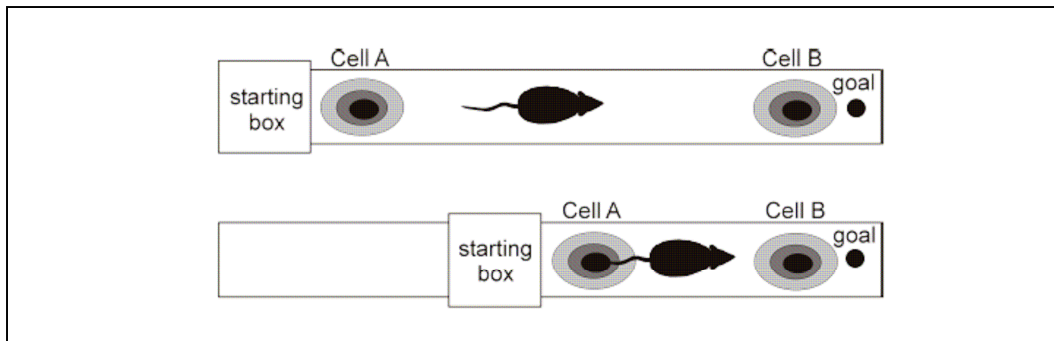


Figure 2.6. Schéma représentant les résultats de Gothard et al. (1996). Les rats sont entraînés à faire des aller-retour entre une boîte de départ et une coupelle de nourriture (goal) sur un couloir. Pendant le trajet de sortie, la boîte de départ peut être bougée à différents endroits (en bas). Sur la portion initiale, les cellules déchargent à une distance constante de la boîte de départ (cell A), alors que sur la portion finale, les cellules déchargent par rapport aux indices fixes (cell B), ce qui suggère un contrôle par l'intégration du trajet et par les indices environnementaux respectivement. Modifié d'après Gothard et al., 1996.

Dans une autre expérience mettant en conflit les informations allothétiques et idiothétiques, Jeffery et O'Keefe (1999) ont examiné quel type d'information prédomine dans le contrôle de l'activité des cellules de lieu. Ils ont réalisé un conflit entre un indice distal (carte accrochée aux rideaux entourant l'arène) et la position du rat (figure 2.7). Ils confinent le rat dans une petite boîte opaque au centre de l'arène, placée sur un plateau tournant, et ensuite procèdent à la rotation de la carte et du plateau afin d'évaluer si les champs d'activité sont contrôlés par la carte (repères allothétiques) ou bien par la position de l'animal (repères inertiels idiothétiques). Avant ce conflit, un groupe de rats a subi un entraînement dans lequel la carte bougeait d'un essai à l'autre. Un autre groupe n'a pas eu l'expérience que la carte pouvait bouger d'un essai sur l'autre. Chez les rats qui ont vu la carte bouger, les champs d'activité sont plutôt contrôlés par la position de l'animal, alors que chez les rats qui n'avaient jamais vu la carte bouger, les champs d'activité suivent de préférence la carte. Ainsi, si les repères sont mobiles, les cellules de lieu « apprennent » à ne plus les considérer comme des repères fiables, et donc, à plutôt se fier aux informations vestibulaires.

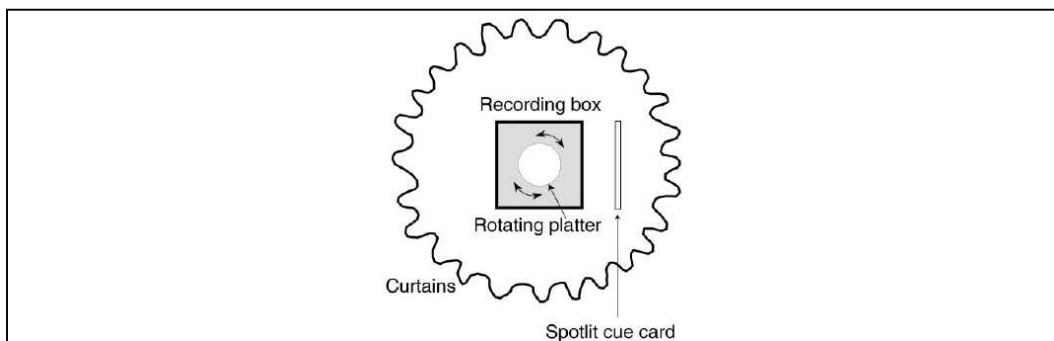


Figure 2.7. Dispositif d'enregistrement de Jeffery et O'Keefe (1999).

Dans d'autres types d'études utilisant le conflit, les indices environnementaux sont tournés pendant que l'animal reste dans le dispositif. Des travaux ont montré que lors d'une rotation de 45° des repères environnementaux en présence de l'animal, représentant un conflit modéré, les champs d'activité demeurent sous le contrôle des indices visuels (Knierim et al., 1998 ; Rotenberg et Muller, 1997). Par contre, lors d'une rotation plus importante (180°), soit les champs d'activité restent stables, ce qui suggère un contrôle des champs d'activité par les informations idiothétiques (Rotenberg et Muller, 1997), soit un *remapping* (chapitre 7.1) se produit, ce qui suggère la formation d'une nouvelle représentation (Knierim et al., 1998 ; Gothard et al., 1996 ; Bures et al., 1997). La stabilité des champs d'activité est donc assurée par l'interaction dynamique entre les informations allothétiques et idiothétiques. McNaughton et collaborateurs ont proposé que le câblage intrinsèque de l'hippocampe permettrait l'utilisation instantanée des informations idiothétiques alors que les informations allothétiques seraient progressivement incorporées à la représentation (McNaughton et al., 1996).

Toutes ces études mettent en évidence la flexibilité du système des cellules de lieu et sa capacité à s'adapter en maintenant une représentation spatiale cohérente, malgré l'absence d'une ou de plusieurs modalités sensorielles, ou malgré les changements environnementaux générés par des pertes d'indices ou par des conflits.

Finalement, les études visant à mieux comprendre le contrôle sensoriel de l'activité des cellules de lieu, montrent clairement la complexité et la diversité des réponses enregistrées, ce qui reflète aussi la diversité des entrées du système hippocampique et met en évidence l'intégration multimodale qui prédomine dans cette structure. C'est justement cette caractéristique qui permet à l'animal de compenser la perte ou la distorsion de l'information lors d'une modification environnementale, et qui lui permet de naviguer de manière efficace.

2.3. Cellules de direction de la tête

Pour réussir à naviguer entre deux lieux, un organisme doit avoir connaissance de sa situation spatiale par rapport à son environnement avant de s'engager sur une route. La perception de la situation dans l'espace requiert deux types d'informations complémentaires : le lieu et la direction. Si l'organisme ne détient qu'une seule de ces deux informations, il limite considérablement ses chances de s'orienter avec succès dans l'espace. Ces deux types d'informations sont encodés

par deux groupes différents de neurones du système limbique. Les cellules de lieu de l'hippocampe codent pour le lieu indépendamment de la direction de la tête comme nous venons de le voir, et les cellules de direction de la tête codent pour la direction de la tête, indépendamment de la localisation de l'animal. Les cellules de direction de la tête et les cellules de lieu ont donc des propriétés complémentaires. Dans un premier temps, je décrirai les propriétés générales des cellules de direction de la tête. Dans un deuxième temps, je discuterai comment la direction préférentielle d'une cellule de direction peut bien être contrôlée par différents types de repères environnementaux. Dans un troisième point, je résumerai succinctement les différentes régions du cerveau dans lesquelles les cellules de direction ont été mises en évidence. Pour finir, il sera intéressant d'examiner le lien fonctionnel qui existe entre les cellules de direction et les cellules de lieu.

2.3.1. Propriétés et points communs avec les cellules de lieu

Les cellules de direction de la tête constituent la seconde grande classe de cellules dont l'activité est spatialement modulée. Elles ont été pour la première fois découvertes dans la région postsubiculaire de la formation hippocampique du rat (Ranck et al., 1984) et plus tard dans de nombreuses autres régions intimement connectées. Elles ont pour propriété d'être actives pour une direction donnée de la tête de l'animal, indépendamment de sa position dans l'espace. Chaque cellule a une direction préférentielle unique, dont l'activité décroît très rapidement, de façon symétrique, et quasi linéaire quand la tête de l'animal s'éloigne de la direction préférentielle. Lorsque l'on représente le taux de décharge du neurone en fonction de la direction de la tête, on peut en effet observer un pic unique en forme de gaussienne qui couvre une portion angulaire de l'ordre de 90° (Blair et Sharp, 1995 ; Taube, 1995). La fréquence de décharge au pic peut varier de 5 P.A./s à 120 P.A./s (Sharp, 2001) et au-delà de la zone d'activation, la cellule est virtuellement silencieuse (figure 2.8).

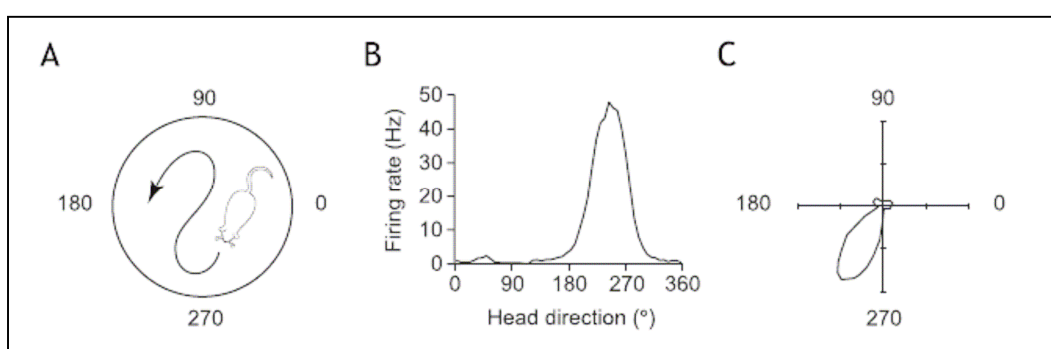


Figure 2.8. Exemple de cellule de direction de la tête. **A.** Schéma de l'environnement servant habituellement (cylindre de 76 cm de diamètre) à l'enregistrement de l'activité d'une cellule de direction. L'animal doit explorer son environnement à la recherche de nourriture distribuée de manière aléatoire sur le sol de l'arène. **B.** Graphique représentant l'activité de décharge d'une cellule de direction en fonction des différents angles de la tête. Cette cellule montre une décharge préférentielle pour un angle de 245°. **C.** Graphique polaire de l'activité de la même cellule : autre façon de représenter l'activité de décharge d'une cellule de direction, souvent rencontrée dans la littérature (e.g., Knierim et al., 1995). Modifié d'après Sharp et al. (2001).

Quand on examine la distribution des directions préférentielles d'un nombre important de cellules, on constate qu'elles se répartissent uniformément sur les 360° d'angle autour de l'animal (Taube et al., 1990), à l'image des champs d'activité des cellules de lieu qui se distribuent globalement de façon homogène dans l'environnement (Muller et al., 1987). De même, il ne semble pas exister de topographie dans les différentes directions représentées par des cellules voisines, ce qui évoque l'absence de topographie observée pour le système des cellules de lieu. Tout comme les cellules de lieu encore, les propriétés de décharge (angle et fréquence) des cellules de direction restent stables à travers les sessions d'enregistrement si le contexte environnemental reste inchangé.

Un autre point commun réside dans le fait qu'une rotation passive de l'animal maintenu en contention par l'expérimentateur provoque une absence totale de décharge des cellules de direction de la tête, ce qui suggère la nécessité d'une entrée motrice volontaire pour activer ces cellules (Knierim et al., 1995). Ce résultat est comparable à celui déjà observé pour les cellules de lieu (Foster et al., 1989).

Il existe, dans les noyaux mamillaires latéraux, côte à côte avec les cellules de direction, des cellules qui combinent une information directionnelle et une information sur la vélocité angulaire de la tête de l'animal (Stackman et Taube, 1998 ; Bassett et Taube, 2001 ; Sharp et al., 2001) et que l'on retrouve aussi dans d'autres régions (figure 2.11).

2.3.2. Contrôle sensoriel de l'activité des cellules de direction

Rôle de la vision

Comme les cellules de lieu, les cellules de direction sont sensibles aux manipulations environnementales. Par exemple, dans un cylindre similaire à celui utilisé pour l'enregistrement de l'activité des cellules de lieu, une rotation de l'indice visuel réalisée en l'absence de l'animal entraîne une rotation équivalente de l'angle de décharge préférentiel des cellules de direction de la tête (Taube et al., 1990a) (figure 2.9).

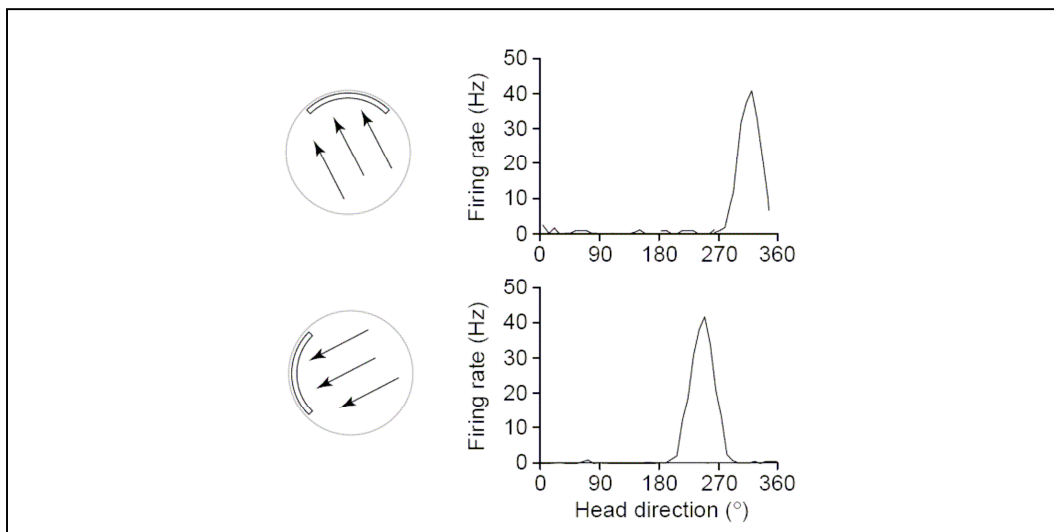


Figure 2.9. Exemple d'une cellule de direction montrant une direction préférentielle contrôlée par une carte indice polarisant l'environnement. En haut, à gauche, les flèches représentent la direction préférée de la cellule dans les conditions standard. En haut à droite, la courbe représentant la fréquence d'activité en fonction de l'angle de la tête de l'animal : la décharge maximum est à 335°. En bas, à droite, les flèches suivent de manière cohérente la nouvelle position de la carte qui a été tournée de 90° antihoraire. L'angle de décharge maximum, comme le montre la courbe de la fréquence d'activité en bas à gauche, est de 245°.

Les indices éloignés semblent, en outre, mieux contrôler la direction de décharge préférentielle des cellules de direction, que les indices proches (Zugaro et al., 2001), tout comme pour les cellules de lieu. Il est en effet raisonnable de penser que le système d'orientation a évolué de façon à favoriser la sélection des repères les plus distants car ils offrent des repères plus stables, et donc plus fiables, lors d'un déplacement.

Rôle des modalités non visuelles et idiothétiques

La propriété fondamentale de ces cellules étant d'être purement directionnelles, cela pourrait suggérer un mode de fonctionnement de type compas comme chez les pigeons voyageurs ou chez les espèces migratrices. Ainsi, ces cellules pourraient être sensibles au champ géomagnétique global. Cependant, aucune

étude n'a pu étayer cette hypothèse. En effet, lors de la rotation d'une carte indice dans l'arène, les cellules de direction maintiennent une relation constante avec les indices de l'environnement au lieu de rester stables par rapport aux indices magnétiques locaux (Taube et al., 1990 ; Knierim et al., 1998). Selon eux, ce résultat suggère que le magnétisme n'est pas un élément utilisé par les cellules de direction. Il semblerait néanmoins plus prudent de conclure que les indices visuels sont utilisés de façon privilégiée.

Les indices auditifs n'exercent pas de contrôle significatif sur la décharge des cellules de direction (Goodridge et al., 1998). En revanche, un indice olfactif exerce un contrôle qui est cependant moins efficace que celui exercé par un indice visuel (Goodridge et al., 1998).

Les informations idiothétiques ont également une influence sur les cellules de direction. Une des propriétés fondamentales qui rapproche une fois de plus le système des cellules de direction de la tête avec celui des cellules de lieu, est que l'activité des cellules de direction est maintenue même lorsque les indices environnementaux sont retirés (Taube et al., 1990 ; Goodridge et Taube, 1995), ou encore lorsque les animaux sont plongés dans l'obscurité (Chen et al., 1994b ; Mizumori et Williams, 1993). Dans une expérience très élégante, Blair et Sharp (1996) ont examiné l'importance des informations idiothétiques. Dans leur dispositif, les seuls indices visuels disponibles sont 4 bandes noires verticales réparties de façon homogène sur les parois du cylindre expérimental (figure 2.10).

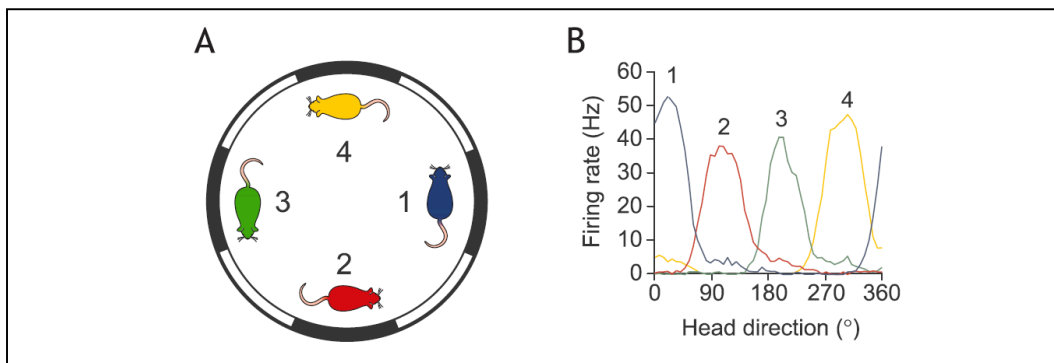


Figure 2.10. Les cellules de direction de la tête montrent une intégration de trajet angulaire. **A.** Ce schéma représente le dispositif symétrique utilisé par Blair et Sharp (1996) pour tester la capacité d'intégration de trajet des cellules de direction. L'environnement visuel du dispositif est symétrique et est constitué d'une alternance de bandes noires et blanches de même largeur. Il en résulte un environnement visuel ambigu. **B.** Ce graphique représente les courbes de sélectivité directionnelle d'une seule et même cellule en fonction des différents points d'entrée de l'animal dans le dispositif. Pour le point de départ numéro 1, la cellule montre une sélectivité directionnelle pour un angle de 30°. Pour chaque point de départ (de 1 à 4), la cellule voit son pic d'activité décalé de 90°. D'après Sharp et al. (2001).

L'environnement visuel est donc ambigu car il ne possède pas d'indice visuel directionnel permettant d'orienter l'environnement. De cette façon, l'animal reçoit exactement les mêmes entrées visuelles qu'il soit placé vers le nord, vers l'est, vers le sud ou vers l'ouest. Pendant la session standard, le rat est toujours placé à côté de la bande noire 'est', faisant face au nord. La cellule enregistrée décharge toujours pour une seule direction malgré l'ambiguïté dans la polarité de l'environnement. En désorientant l'animal puis en l'introduisant dans l'arène par un nouveau point d'entrée décalé de 90° (face à l'est par exemple), la direction préférentielle de la cellule subit aussi un décalage de 90°. Le décalage angulaire dans la direction préférentielle suit systématiquement le point d'entrée de l'animal dans le dispositif. Ce résultat suggère que la direction du système s'initialise en fonction de la position de départ dans l'environnement puisque le système se 'cale' sur les seuls indices disponibles de l'arène. Seulement, si les cellules déchargeaient uniquement sur la base des indices sensoriels visuels disponibles dans l'arène, on s'attendrait à ce que chaque cellule ait 4 pics d'activité correspondant à 4 directions préférentielles. Or, pendant une session d'enregistrement, chaque cellule n'a qu'une direction préférentielle, ce qui suggère que les cellules de direction utilisent les informations du mouvement de la tête de l'animal (vestibulaires et proprioceptives) au cours de la session pour lever les ambiguïtés sur l'environnement.

En résumé, les cellules de direction, comme les cellules de lieu, ne sont pas de simples cellules sensorielles. Le 'sens de la direction' de l'animal est en permanence actualisé grâce aux informations idiothétiques reposant sur les indices inertiels (vestibulaires) et proprioceptifs. Stackman et Taube (1997) trouvent des résultats qui vont aussi dans ce sens, puisqu'en réalisant des lésions du système vestibulaire, les cellules perdent leur direction préférentielle.

2.3.3. Régions anatomiques qui possèdent des cellules de direction

Bien que les cellules de direction de la tête aient été initialement découvertes dans le présubiculum dorsal (postsubiculum) (Ranck, 1984 ; Taube et al., 1990, 1990a), d'autres études, plus récentes, ont montré l'existence de cellules aux propriétés comparables dans des régions étroitement connectées avec le présubiculum dorsal: le noyau thalamique antéro-dorsal (Taube, 1995a), le noyau thalamique latéro-dorsal (Mizumori et Williams, 1993), les noyaux mamillaires latéraux (Stackman et Taube, 1998) et plus récemment, le noyau tegmental dorsal de Gudden (Sharp et al., 2001 ; Bassett et Taube, 2001), ainsi que dans des régions corticales connues pour jouer un rôle important dans les comportements spatiaux : le cortex

pariétal (Chen et al., 1994a,b ; Chen et Nakamura, 1998) et le cortex rétrosplénial (Cho et Sharp, 2001 ; Chen et al., 1994a, b). De petites populations de cellules de direction de la tête ont également été observées dans le champ CA1 de l'hippocampe (Leutgeb et al., 2000) et le striatum (Wiener, 1993 ; Mizumori et al., 2000). Certains auteurs ont également observé une composante directionnelle dans le cortex cingulaire antérieur dorsal et dans l'aire précentrale motrice (Guazzelli et al., 2000).

Ainsi, il est frappant de constater que le codage de la direction de la tête est assuré par un large réseau de structures aussi bien sous-corticales que corticales alors que le codage de position est concentré dans la formation hippocampique. On est en présence de deux réseaux fonctionnels distincts (figure 2.11).

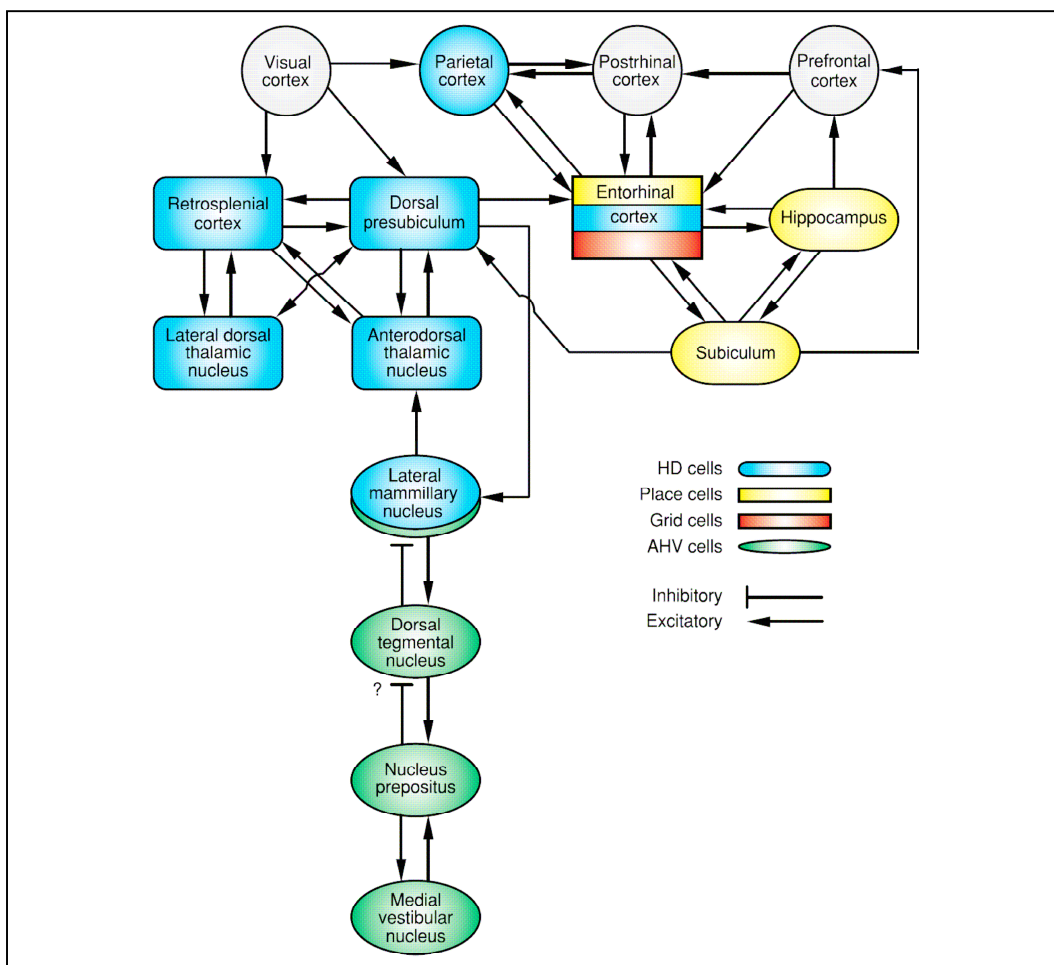


Figure 2.11. Diagramme résumant les principales connexions entre les structures présentant des cellules de direction de la tête (bleu : HD cells), cellules de lieu (jaune : Place cells), cellules grille (rouge : grid cells) et cellules de vélocité angulaire (vert : AHV cells). Notez que le cortex entorhinal possède les 3 types principaux de cellules : direction, lieu et grille. Modifié d'après Taube (2007).

2.4. Relations entre cellules de lieu et cellules de direction

Comme nous l'avons vu précédemment, de nombreuses études ont mis en évidence la ressemblance des propriétés des cellules de lieu et des cellules de direction de la tête. Ces populations ont toutes deux des propriétés d'intégration des informations environnementales (visuelles et olfactives) et des informations liées au mouvement de l'animal (idiothétiques).

La similarité frappante des propriétés de contrôle de l'activité des cellules de direction avec celles des cellules de lieu, renforce l'idée que les deux populations de neurones font partie d'un même réseau fonctionnel. Cette hypothèse est appuyée par l'existence de connexions anatomiques étroites entre les différentes composantes de ce réseau (entre autre via le subiculum et le postsubiculum), et aussi par le fait que les cellules de lieu et les cellules de direction sont affectées de la même façon par certaines manipulations expérimentales. Par exemple, une étude a montré que si l'animal subit une désorientation, la courbe de sélectivité directionnelle des cellules de direction subit une rotation équivalente à la rotation des champs d'activité (Knierim et al., 1995 ; 1998) (figure 2.12), ce qui souligne le couplage fonctionnel qui existe entre ces deux populations.

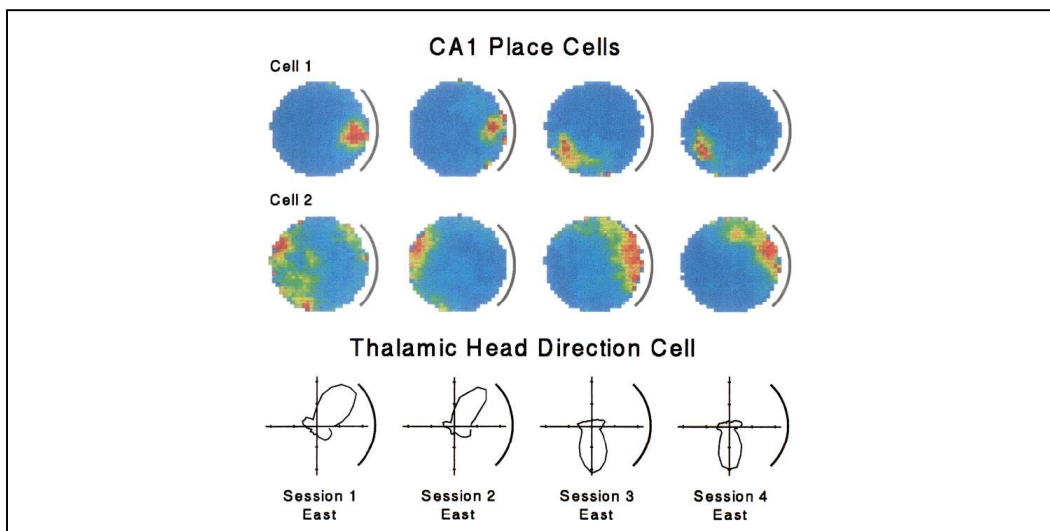


Figure 2.12. Changements simultanés et coordonnés d'activité de cellules de lieu (CA1) et de cellules de direction de la tête (thalamus). La figure représente les cartes des champs d'activité de deux cellules de lieu enregistrées simultanément, ainsi que la carte de sélectivité directionnelle d'une cellule de direction, enregistrée en même temps que les cellules de lieu. Toutes les sessions ont été enregistrées le même jour. La carte servant d'indice visuel est toujours située dans la même position. Avant chaque introduction dans le dispositif, l'animal subit une désorientation et est introduit par un point d'entrée toujours différent. À partir de la 3^{ème} session, les deux cellules de lieu, de façon cohérente, voient leur champ d'activité pivoter d'environ 135°, et la courbe de sélectivité directionnelle de la cellule thalamique subit une rotation équivalente. D'après Knierim et al. (1995).

Ainsi, les deux types de cellule présentent des propriétés complémentaires dans l'établissement d'une représentation spatiale de l'environnement, mais le fait que des signaux de nature positionnelle et directionnelle soient générés dans des réseaux anatomiques connectés mais distincts suggère qu'une troisième structure combinerait ces deux types d'information. Des études récentes, conduites au Centre de Biologie de la Mémoire à Trondheim sous la direction de Edvard I. et May-Britt Moser, ont démontré que le cortex entorhinal et plus particulièrement l'aire médiane (CEM) permettait d'accomplir une telle fonction (Fyhn et al., 2004 ; Hafting et al., 2005 ; Sargolini et al., 2006, 2006a).

Les données anatomiques viennent appuyer cette hypothèse puisque le cortex entorhinal médian reçoit les informations directionnelles du postsubiculum et les informations de lieu de l'hippocampe principalement via le subiculum. Le cortex entorhinal est donc idéalement situé pour intégrer les deux types d'informations.

2.5. Cellules grille

Les chercheurs norvégiens ont fait en 2004 la découverte dans le cortex entorhinal d'une population de cellules participant au codage de l'espace (Fyhn et al., 2004).

2.5.1. Origines de la découverte

Le cortex entorhinal est une structure à l'interface entre les entrées sensorielles néocorticales et l'hippocampe, puisque la plus grande partie des informations sensorielles traitées par les aires associatives corticales y transite avant d'atteindre l'hippocampe. Une des questions essentielles est donc de savoir si une représentation spatiale est déjà présente dans le cortex entorhinal ou si elle est localement formée dans l'hippocampe.

En fait, les norvégiens n'étaient pas les premiers à s'intéresser à l'activité électrophysiologique du cortex entorhinal. Quirk et al. (1992) avaient déjà enregistré dans la partie ventrale du CEM des cellules avec une faible modulation spatiale. Une étude de Franck et al. (2000) viendra confirmer ces résultats. Il faudra néanmoins attendre des avancées significatives dans la compréhension de l'anatomie du cortex entorhinal pour permettre aux chercheurs d'enregistrer dans les zones les plus pertinentes du cortex entorhinal.

L'organisation neuroanatomique du CE est extrêmement complexe. L'un des schémas possibles d'organisation dissocie la bande dorso-latérale de la bande ventro-médiane. Ces deux bandes s'étendent à la fois sur le cortex entorhinal médian (CEM) et le latéral (CEL). Il existe une forte relation topographique entre

ces bandes et l'hippocampe : la bande dorso-latérale a une relation privilégiée avec la partie dorsale de l'hippocampe, la bande intermédiaire avec la partie médiane de l'hippocampe, et la ventro-médiane avec la partie la plus ventrale de l'hippocampe. On sait aussi que les cellules hippocampiques qui ont les propriétés de décharge spatiale les plus spécifiques sont celles qui sont situées dans la partie la plus dorsale de l'hippocampe, et que cette sélectivité diminue dans la partie ventrale (Jung et al., 1994 ; Poucet et al., 1994). Il paraissait alors plausible que cette organisation se retrouve au niveau du cortex entorhinal. Cette hypothèse a été testée dans un travail réalisé par Fyhn et al. en 2004, dans lequel ils ont réussi à enregistrer l'activité des cellules en ciblant les différentes bandes du CEM. Les progrès réalisés dans la précision du positionnement de l'électrode au sein de la structure anatomique ont permis à Fyhn et à son équipe (2004) de mettre en évidence pour la première fois qu'il existe dans les couches superficielles (celles qui innervent l'hippocampe) de la bande dorso-latérale du CEM, une activité spatio-sélective. Cependant, cette sélectivité spatiale semble décroître progressivement dans la bande intermédiaire pour quasiment disparaître dans la bande ventro-médiane (figure 2.13).

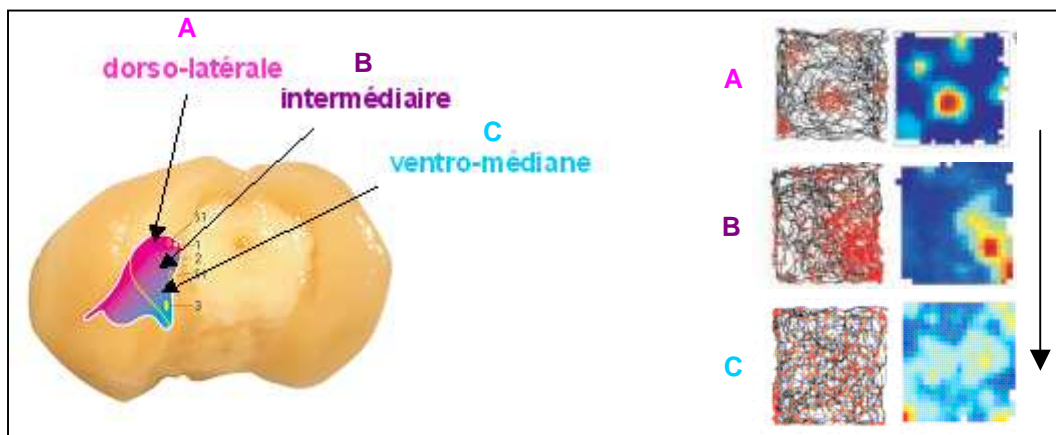


Figure 2.13. Activité spatio-sélective en amont de l'hippocampe dans la bande dorso-latérale du CEM. A gauche, vue ventro-postérieure d'un cerveau de rat, montrant les limites du cortex entorhinal gauche. La ligne jaune délimite le CEM et le CEL. A droite, trajectoires des animaux et cartes d'activité associées montrant les enregistrements dans une arène carrée (1m x 1m) des cellules des différentes bandes du CEM (bleu : pas de décharge ; rouge : décharge maximum). La modulation spatiale enregistrée décroît à mesure que l'électrode s'enfonce dans le plan dorso-ventral. Modifié d'après Fyhn et al., 2004.

Ces travaux montrent qu'il existe une sélectivité spatiale en amont de l'hippocampe. Cette sélectivité n'est pas originaire de l'hippocampe lui-même étant donné qu'après des lésions complètes de l'hippocampe, l'activité spatiale des cellules du cortex entorhinal n'est pas altérée (Fyhn et al., 2004).

2.5.2. Propriétés

Hafting et la même équipe enregistrent cette fois-ci les cellules du CE chez des rats se déplaçant dans une arène circulaire deux fois plus grande que celle utilisée par Fyhn et collaborateurs (2m de diamètre). Ils observent que les cellules enregistrées par Fyhn et al. présentent un pattern régulier d'activation, avec de multiples champs d'activité. Ces champs sont disposés de manière à former une grille à maille triangulaire, couvrant l'ensemble de l'environnement exploré par l'animal : ce sont les cellules grilles ou 'grid cells' (Hafting et al., 2005) (figure 2.14). Edvard Moser et toute son équipe ont été dubitatifs face à la régularité frappante du motif: '*We didn't really believe it*' ... '*We had to do some additional analysis to make sure this was biological*' (voir encadré 1 pour comprendre comment ce motif régulier peut émerger).

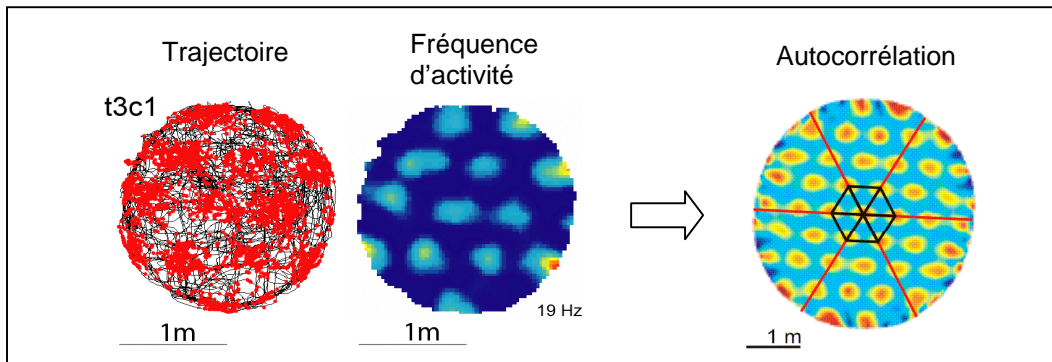


Figure 2.14. L'enregistrement dans un environnement très large (2m de diamètre) révèle le motif très régulier, caractéristique de l'activité spatiale d'une cellule grille de la couche superficielle (II) du CEM. De gauche à droite : représentation de la trajectoire de l'animal avec chaque potentiel d'action (point rouge), carte de la fréquence d'activité lissée (le chiffre sous la carte indique le pic d'activité moyen), carte d'autocorrélation (échelle allant de $r = -1$, bleu ; $r = 0$, vert ; $r = 1$, rouge), sur laquelle la structure régulière du motif d'activité apparaît encore plus évidente. Les traits rouges représentent les axes définissant l'orientation de la grille, le triangle noir représente le motif unitaire de la mosaïque. L'angle formé par les axes passant par les deux pics d'activité les plus proches est toujours en moyenne de 60° , quel que soit l'espacement entre les pics d'activité. D'après Hafting et al., 2005.

L'activité des cellules grilles peut être définie par au moins 3 paramètres principaux : l'espacement entre les sous-champs de la grille, la taille des champs, et l'orientation¹¹ de la grille par rapport à l'environnement.

Cellules voisines

Des cellules grilles voisines ont un espacement, une taille de sous-champs et une orientation similaires. Par contre, si on examine l'emplacement des pics d'activité

¹¹ L'orientation des grilles se base sur l'orientation des trois axes se croisant au niveau du sommet (vertex) des six triangles équilatéraux formant un hexagone (voir figure 2.14).

de deux cellules voisines, il existe un décalage de phase de type translation, entre les différents sous-champs de chaque grille. Il en résulte que collectivement, un petit nombre de cellules suffit à couvrir l'ensemble de l'espace de l'arène d'enregistrement (figure 2.15 et figure 2.18).

Contrairement à la propriété d'espacement et d'orientation des grilles, la position des sous-champs des grilles (la phase) de différentes cellules co-localisées est distribuée de manière aléatoire. Cette organisation aléatoire n'est pas sans rappeler l'absence de relations topologiques entre des cellules de lieu enregistrées sur une même électrode dans l'hippocampe et pourrait même en être à l'origine (Sargolini et Moser, 2007 ; Redish et al., 2001).

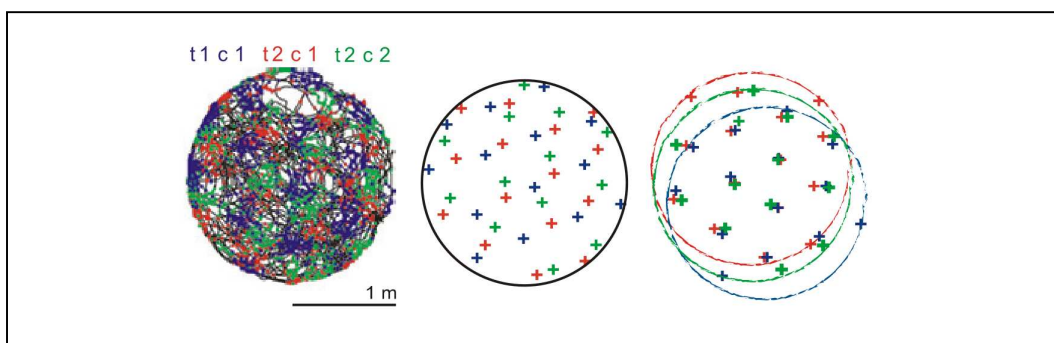


Figure 2.15. Les grilles d'activité de cellules voisines possèdent des phases différentes. t1c1, t2c1, et t2c2 sont trois cellules grille enregistrées simultanément sur la même électrode. La carte de gauche représente la trajectoire de l'animal avec les potentiels d'action de chaque cellule superposés. La carte du milieu matérialise le pic d'activité de chaque sous-champ. La carte de droite représente les trois grilles d'activité alignées selon les pics des sous-champs, ce qui met en évidence la similarité dans l'orientation des grilles et dans l'espacement entre les sous-champs de chaque grille de cellules enregistrées sur une même électrode. D'après Hafting et al., 2005.

Organisation dans le plan dorso-ventral

A mesure que l'électrode s'éloigne du bord postrhinal, c'est-à-dire lorsqu'elle s'enfonce dans un plan dorso-ventral de la bande dorso-latérale du CEM, les cellules présentent des sous-champs de plus en plus larges et l'espacement entre ces sous-champs s'accroît proportionnellement. Dans les bandes intermédiaire et ventro-médiane du CEM, aucune étude n'a encore démontré la présence de cellule de type grille. Les cellules grille montrent donc une forte organisation topographique au sein de la bande dorso-latérale du CEM (figure 2.18 de synthèse).

Organisation au sein des couches

Même si les cellules ont d'abord été découvertes dans la couche II du CEM, elles ont ensuite aussi été mises en évidence dans toutes les couches du CEM,

notamment dans la couche III (couches superficielles II et III), mais encore dans les couches V et VI (couches profondes).

2.5.3. Influence des informations sensorielles sur l'activité des cellules grille

Une des propriétés fondamentales des cellules grille est que leur pattern d'activité ne dépend pas de la nature de l'environnement dans lequel se trouve l'animal. Contrairement aux champs des cellules de lieu de l'hippocampe, les champs d'activité des cellules du cortex entorhinal présentent le même motif quel que soit l'environnement dans lequel se trouve l'animal, ce qui suggère qu'une seule et même représentation neuronale est utilisée dans tous les environnements. Par exemple, l'espacement, la taille des champs et la fréquence de décharge de la grille ne dépendent ni de la taille, ni de la forme du dispositif (figure 2.16).

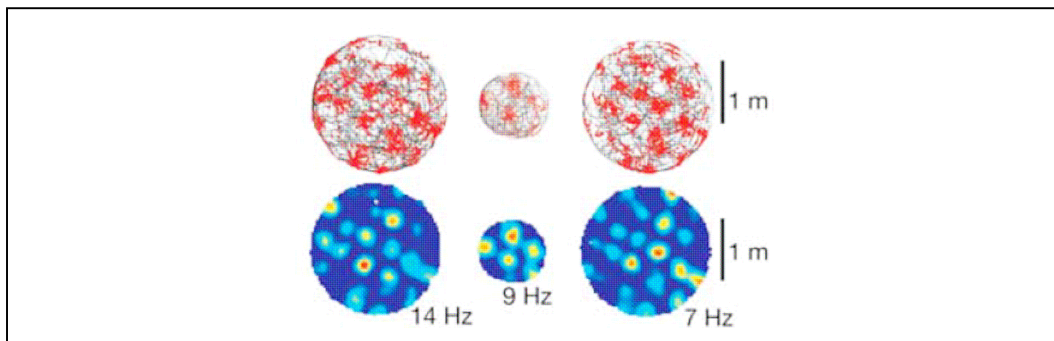


Figure 2.16. La structure de la grille n'est pas confinée aux limites de l'arène. Cartes de décharge montrant une structure triangulaire identique (espacement, taille des sous-champs et fréquence de décharge de la grille) indépendamment de la taille de l'environnement. Quand l'environnement est élargi, le nombre des sous-champs augmente mais leur densité reste stable, suggérant que la grille peut avoir une taille infinie.

Ces champs d'activité se maintiennent en l'absence totale de lumière et apparaissent quasi instantanément lorsque l'animal est introduit dans un environnement, ce qui suggère que les mouvements propres de l'animal suffiraient pour l'établissement et le maintien de la représentation de la grille.

La carte fournie par ces cellules grille permettrait le calcul de la position de l'animal à partir des informations de distance, de direction et de vitesse de l'animal. Sargolini et al. (2006) étayaient cette hypothèse en trouvant dans le CEM des cellules grille, des cellules de direction de la tête, et des cellules combinant les deux propriétés, les 'conjunctive cells' (figure 2.19). Ces trois types cellulaires sont également modulés par la vitesse instantanée de déplacement de l'animal (Sargolini et al., 2006). Les 'conjunctive cells' permettent donc à l'animal d'avoir des informations sur l'origine de la trajectoire, sur la distance et la direction de

l'animal à tout moment de son déplacement. Ces cellules présentent des caractéristiques intéressantes, puisque l'intégration de l'information se fait, non pas à l'échelle de la structure, mais à l'échelle de la cellule.

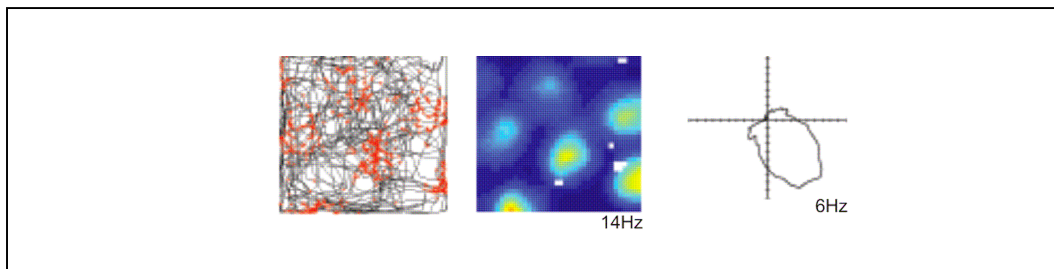


Figure 2.19. Représentation de la position et de la direction au niveau des neurones du CEM : cellule 'conjunctive' : grille x direction qui présente à la fois les propriétés des cellules grille et des cellules de direction. De gauche à droite: représentation des potentiels d'action (point rouge) superposés à la trajectoire de l'animal ; carte d'activité lissée suivant un code couleur (bleu foncé, pas de décharge ; rouge, décharge maximum ; graphique polaire montrant la décharge du neurone en fonction de la direction de la tête de l'animal. Les chiffres situés au-dessous des cartes d'activité indiquent la fréquence de décharge des pics d'activité. Enregistrée au niveau de la couche III. Modifié d'après Sargolini et Moser (2007).

Cette carte pourrait donc faire partie des mécanismes qui permettent à l'animal de réaliser l'intégration du trajet (Samsonovich et McNaughton, 1997 ; Mittelstaedt et Mittelstaedt, 2001). Cette hypothèse est compatible avec les résultats de Parron et Save (2004) qui montrent un déficit d'intégration des trajets chez des rats ayant une lésion du cortex entorhinal. L'ensemble de ces propriétés suggère que les cellules grille font partie d'un système métrique universel de navigation, basé sur l'intégration des trajets (Hafting et al., 2005 ; Fuhs et Touretzky, 2006 ; McNaughton et al., 2006) (**figure 2.17**).

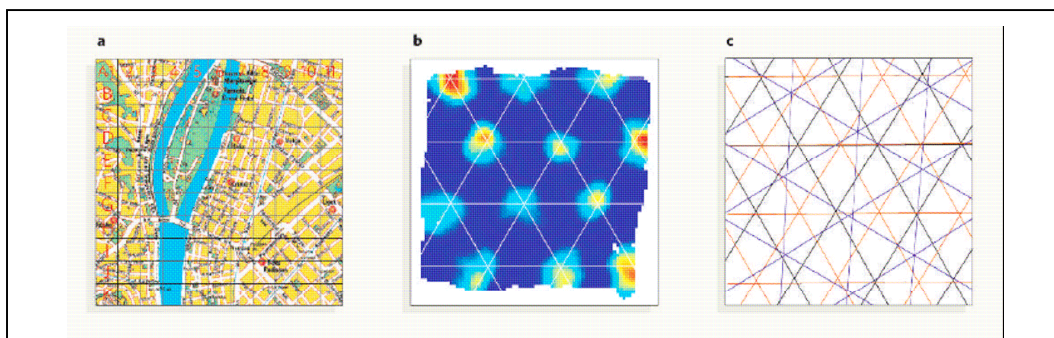
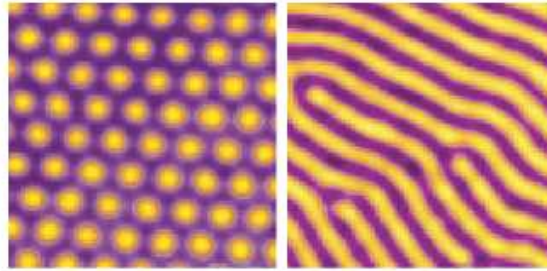


Figure 2.17. Navigation à partir d'une carte quadrillée. Le système des cellules grille, système de coordonnées universelles, est le support cellulaire du mécanisme d'intégration du trajet.

a. Le quadrillage d'une carte fournit des informations sur la position, la distance, et la direction, ce qui permet de situer facilement et précisément un endroit. **b.** Hafting et al. (2005), ont trouvé que lorsque le rat explore un environnement, le taux de décharge d'un neurone de la bande dorso-latérale du CEM (dMEC), augmente à intervalles réguliers, grillageant l'environnement selon un motif à unité triangulaire. **c.** L'intégration de l'information provenant de plusieurs grilles (plusieurs neurones), permet d'augmenter la résolution spatiale de l'environnement. Ici, les motifs de seulement trois cellules grille suffisent à couvrir une partie significative de l'environnement. La rouge et la noire présentent un décalage de phase, tandis que la bleue présente une orientation différente des deux autres. D'après Buzsaki, 2005.

Une rotation des indices visuels placés en périphérie du dispositif d'enregistrement entraîne une rotation équivalente de l'orientation générale des grilles d'activité. Les repères extérieurs sont donc importants pour aligner les représentations des grilles par rapport à l'environnement. Cette propriété permettrait en fait d'assurer la stabilité des représentations au cours de présentations successives dans un même environnement.

Encadré 1



Cortex entorhinal médian ou pelage de guépard ?

Il est captivant d'essayer de comprendre comment un motif aussi régulier - dont la structure évoque plus volontiers une machine qu'une entité biologique - a-t-il bien pu émerger dans le cerveau? P. Sharp rapporte même '*there's no such pattern in the animal's world*' (Heyman, 2006). Et pourtant...

En 1952, le mathématicien anglais Alan Turing, père du connexionnisme et pionnier de l'intelligence artificielle et des réseaux de neurones, avait proposé, dans son ouvrage *The chemical basis of morphogenesis*, un mécanisme qui expliquait comment certaines structures pouvaient émerger spontanément dans les systèmes chimiques. Le mécanisme dit de réaction/diffusion, fait intervenir des substances chimiques, les inhibiteurs et les activateurs, participant à des réactions auto-catalytiques génératrices de formes. Le point crucial du modèle est que la vitesse de diffusion de l'inhibiteur doit être supérieure à celle de l'activateur. Ceci implique que l'étalement local de l'activateur sera limité par la diffusion plus rapide de l'inhibiteur. Ce couplage aboutit spontanément à la formation de pics périodiques de concentration. Cette théorie n'a pu être vérifiée qu'en 1989, par Castets grâce à une réaction dans laquelle l'iodure jouait le rôle de l'activateur et le chlorite celui d'inhibiteur. Il vit alors émerger spontanément un motif, avec une unité triangulaire, parfaitement comparable à celui observé pour l'activité des cellules grille. En réalisant une simulation de la réaction de Turing¹², il est fascinant de voir émerger, en fonction des paramètres de la réaction, un motif pouvant évoquer celui des cellules grille du CEM, ou encore celui des colonnes de dominances oculaires décrites dans le cortex visuel (voir les deux images ci-dessus à gauche et à droite respectivement). Le réseau neuronal qui est constitué de cellules excitatrices et inhibitrices pourrait reproduire l'instabilité décrite par Turing, en imaginant par exemple que les connexions inhibitrices projettent sur un rang plus large que les excitatrices.

En poursuivant l'analogie, le mécanisme décrit par Turing pourrait même expliquer la formation de certains motifs rencontrés dans la nature. Ainsi, des réactions analogues à celles développées précédemment pourraient expliquer des tâches ou des rayures présentes sur le pelage des animaux, (guépard, zèbre, tigre...) ainsi que de nombreux autres phénomènes d'organisation biologiques (termitières). Turing était probablement loin d'imaginer l'étendue des conséquences de son modèle...

¹² Voir le sur le site Internet <http://www.sfu.ca/~cjenning/toybox/turingmorph/> pour réaliser une simulation de la réaction de Turing menant au motif 'grille' ou 'colonne de dominance' en fonction des paramètres de la réaction (diffusion, constante, nombre d'itérations).

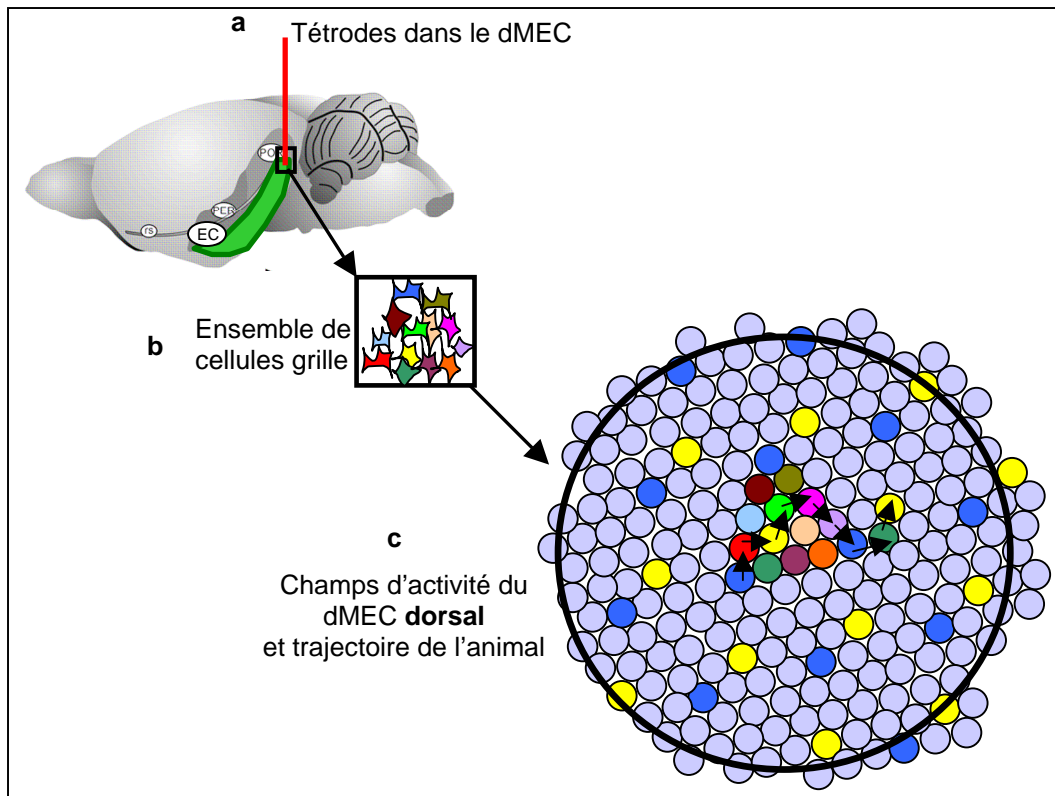


Figure 2.18. Un petit nombre de cellules grille couvre l'ensemble de l'environnement par la répétition de l'unité triangulaire, l'unité des cellules grille. **a.** Le dessin représente un cerveau de rat et plus spécifiquement, la région parahippocampique : le cortex entorhinal est en vert et les cortex post et périrhinaux sont en gris et gris sombre respectivement. La ligne rouge représente la tétrode qui enregistre au niveau de la partie dorsale du cortex entorhinal médian (dMEC). **b.** Le dessin illustre un ensemble de cellules enregistrées dans le dMEC dorsal. **c.** Le dessin représente des champs de lieu d'un ensemble de cellules grille. Chaque cercle forme une partie du champ récepteur d'un neurone. Chaque couleur représente un neurone (pour simplifier, les champs récepteur sur le dessin ne se chevauchent pas, alors que dans la réalité, ils se chevauchent). Le patron d'activité en mosaïque (*tessellation*) est représenté dans son ensemble pour deux cellules seulement (la bleue et la jaune). Les flèches symbolisent la trajectoire virtuelle du rat dans l'arène circulaire. Au fur et à mesure que le rat évolue dans l'arène et dans le champ récepteur de la cellule rouge par exemple, il active la cellule rouge qui se met à décharger. Ensuite quand le rat entre dans le champ récepteur d'une cellule voisine (autre couleur), elle est excitée et décharge. Quand le rat a parcouru la distance qui sépare deux sommets d'une grille (i.e., cercle bleu ou jaune), le patron d'activité se répète encore. **d.** L'espacement et la taille des champs d'activité d'une grille augmentent progressivement selon l'axe dorso-ventral du dMEC, en s'éloignant de la limite postrhinale.

2.6. Autres cellules de la formation hippocampique : cellules du complexe subiculaire

2.6.1. Subiculum

Le subiculum contient des cellules dont l'activité est aussi dépendante de la position de l'animal mais leurs caractéristiques sont assez différentes de celles de l'hippocampe. Leurs champs d'activité sont plus étendus et une même cellule présente souvent plusieurs champs (Muller et al., 1991 ; Sharp et Green, 1994). La

caractéristique la plus importante est que le patron d'activité des cellules est inchangé lorsque l'on passe d'un environnement à un autre. Sharp (1997 ; 1999) montre cependant que la taille des champs d'activité des cellules du subiculum s'adapte à la taille de l'environnement : si l'environnement rétrécit en présence de l'animal, le champ rétrécit aussi, et inversement si l'environnement s'agrandit, le champ s'agrandit (**figure 2.20**). Ce pattern dit d'*expansion/contraction* est aussi observé en enregistrant les cellules de lieu, mais beaucoup moins souvent que pour les cellules du subiculum (Sharp, 1999, mais aussi avant elle, Muller et Kubie, 1987 ; O'Keefe et Burgess, 1996).

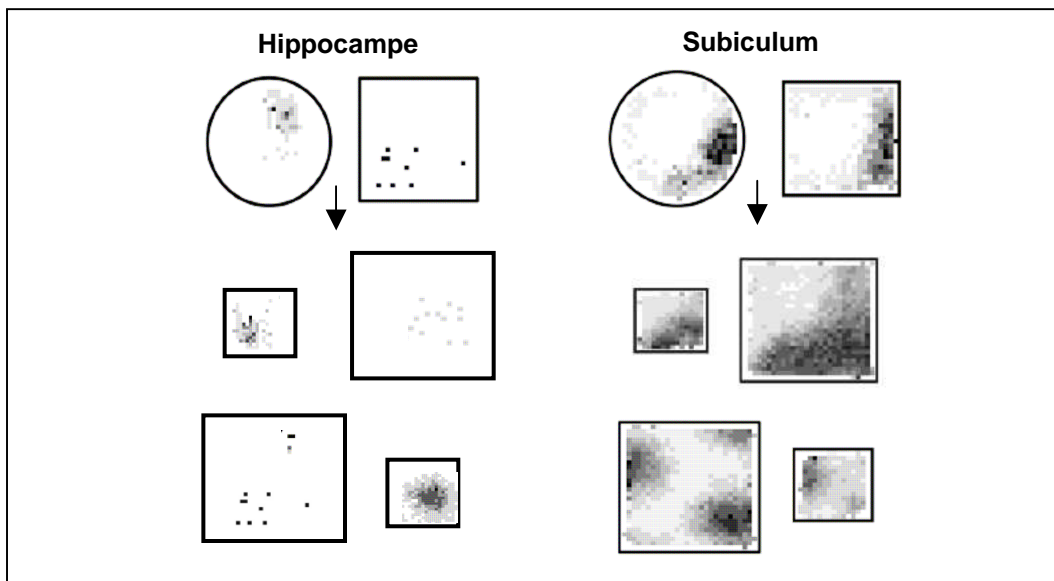


Figure 2.20. Effet d'un changement d'environnement sur les champs d'activité des cellules du subiculum et de l'hippocampe. Lors du passage de l'environnement rond à carré, la majorité des champs des cellules de l'hippocampe présente un remapping, c'est-à-dire crée des représentations distinctes, tandis que les champs d'activité des cellules du subiculum restent stables. Dans deux environnements qui diffèrent en taille, un remapping global est encore observé pour les cellules hippocampiques, tandis que le pattern d'activité des cellules du subiculum s'adapte à la taille de l'environnement en s'élargissant ou se rétrécissant. La flèche représente le retrait de l'animal entre l'arène circulaire et l'arène carrée. Lors du rétrécissement ou de l'agrandissement de l'arène carrée, l'animal est laissé dans l'environnement (modifié d'après Sharp, 1999, 2006).

La stabilité de la décharge spatiale face aux changements environnementaux suggère que la représentation spatiale dans le subiculum ne serait pas construite sur la base de la géométrie ou de la taille du dispositif, mais plutôt à partir du mouvement propre de l'animal. Selon certains auteurs (McNaughton et al., 1996 ; Sharp, 1999), ce serait donc le processus d'intégration des trajets qui permettrait la construction d'une carte dans le subiculum, carte qui aurait pour fonction d'assister les cellules de lieu hippocampiques dans la construction de nouvelles représentations spatiales. Ces auteurs considéraient l'activité des cellules subiculaires comme étant le reflet d'une carte universelle utilisée pour chaque

environnement. L'hypothèse d'une carte universelle basée sur l'intégration des trajets n'est pas sans rappeler la récente découverte des cellules grilles du cortex entorhinal. Le subiculum est effectivement bien placé pour détenir des cellules de type grille puisqu'il reçoit des afférences directes en provenance du MEC.

Cependant, contrairement aux cellules du subiculum, l'échelle de l'espacement des champs des cellules grille ne varie pas en fonction des changements d'échelle du dispositif, autrement dit, l'espacement entre les pics d'activité de la grille est indépendant des variations de taille de l'environnement. Ceci suggère que ces structures, en dépit de leurs similitudes, ont des rôles bien distincts. Cette hypothèse est étayée par l'organisation des connexions anatomiques du cortex entorhinal et du subiculum avec l'hippocampe, puisque les deux populations de cellules sont respectivement à l'entrée et à la sortie du système hippocampique.

Le parallèle frappant que l'on peut faire aujourd'hui entre le complexe subiculaire et le cortex entorhinal conduit à se questionner sur l'importance probablement sous-estimée du complexe subiculaire dans l'élaboration des signaux de type spatial et de leur contribution dans le traitement de l'espace.

2.6.2. Pre et parasubiculum

Notons également qu'il a été découvert très récemment un petit nombre de neurones de type grille au niveau du pre et parasubiculum, avec le plus souvent une modulation directionnelle (figure 2.21) (Sargolini et al., 2006a). Elles sont cependant bien moins nombreuses que les cellules de direction de la tête.

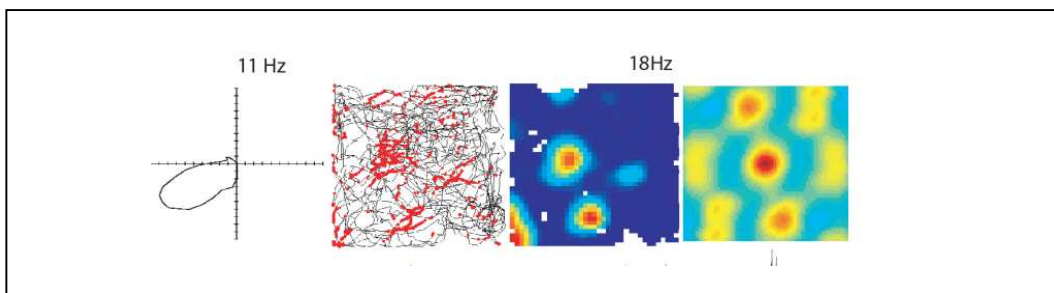


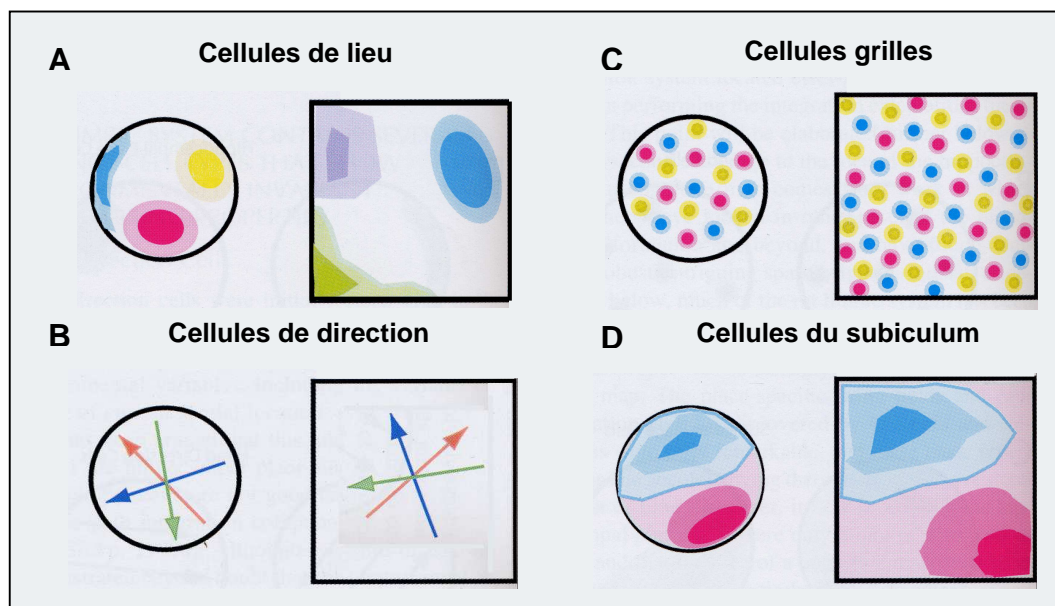
Figure 2.21. Cellules grille 'conjunctive' dans le présubiculum. De gauche à droite: graphique polaire montrant la décharge du neurone en fonction de la direction de la tête de l'animal ; représentation des potentiels d'action (point rouge) superposés à la trajectoire de l'animal ; carte d'activité lissée suivant un code couleur (bleu foncé, pas de décharge ; rouge, décharge maximum) ; carte d'autocorrélation (échelle allant de $r = -1$, bleu ; $r = 0$, vert ; $r = 1$, rouge). (D'après Sargolini et al., 2006a).

Le rapprochement possible entre cellules entorhinales et pre/parasubiculaires pouvait paraître étonnant tant qu'on considérait le pre et parasubiculum comme étant des structures de sortie du système hippocampique. Cependant, la neuroanatomie récente considère plutôt les pré- et para-subiculum comme

structures d'entrée de l'hippocampe, via le cortex entorhinal (Witter et Amaral, 2004).

2.7. Conclusion sur les cellules avec des corrélats spatiaux

La découverte des cellules de lieu d'O'Keefe et Dostrovsky en 1971 n'était que la partie émergée de l'iceberg. La découverte tout aussi fascinante en 2004, par l'équipe des Moser des cellules grille, a permis de ré-envisager le système limbique au niveau fonctionnel et de véritablement se dégager de la vision « hippocampo-centrée » qui prédominait jusqu'alors. Il est dorénavant plus approprié de penser que la 'carte cognitive' de Tolman et puis de O'Keefe et Nadel provient d'un large ensemble de structures interconnectées, dont l'hippocampe joue bien évidemment toujours un rôle important, mais en collaboration avec d'autres structures, comme par exemple le cortex entorhinal associé aux aires parahippocampiques.



Dessin récapitulatif des principaux types de cellules avec des corrélats spatiaux. Ces schémas mettent en évidence la diversité et la complémentarité des réponses spatiales enregistrées dans un large réseau de structures toutes impliquées dans le traitement de l'information spatiale. Entre les deux environnements, l'électrode ne bouge pas et on enregistre un même groupe de cellules simultanément. **A.** Un ensemble différent de cellules de lieu est actif dans chaque environnement. Seule la cellule bleue a un champ dans les deux environnements et la taille, la forme et la position relative du champ de cette cellule sont différentes du rond au carré. **B.** Chaque flèche représente la direction préférentielle de chaque cellule de direction de la tête. Ces cellules maintiennent les mêmes directions les unes par rapport aux autres entre les deux environnements. **C.** Exemples représentatifs de trois cellules grille du cortex entorhinal. Dans ces exemples, les trois cellules partagent un même espacement de grille et une même orientation, comme c'est le cas pour des cellules proches anatomiquement. **D.** Exemples représentatifs de deux cellules du subiculum. Les deux cellules s'élargissent ou se réduisent pour s'adapter à la taille de l'environnement et maintiennent la même relation spatiale entre elles d'un environnement à l'autre.

2.8. L'hippocampe: mémoire de l'espace ou espace de mémoire ?¹³

La mémoire épisodique : une théorie fédératrice

Parallèlement aux études portant sur le codage de l'espace par les cellules de lieu et l'hippocampe en général, plusieurs équipes ont enregistré l'activité des cellules pyramidales de l'hippocampe au cours de diverses tâches d'apprentissage, impliquant une discrimination de stimuli olfactifs, auditifs, visuels (Eichenbaum et al., 1987 ; Wiener et al., 1989, 1995 ; Sakurai, 1996) ou impliquant des tests de reconnaissance de stimuli (appariement ou non-appariement à un modèle) (Sakurai, 1994 ; Otto et Eichenbaum, 1992 ; Deadwyler et al., 1996 ; Wood et al., 1999). La première étude, représentative de cette cohorte de travaux est celle d'Eichenbaum et collaborateurs (1988, 1988a), qui a consisté à étudier les corrélats de l'activité des neurones hippocampiques dans une tâche de reconnaissance d'odeurs. A l'une des extrémités de la cage du rat, deux orifices laissent passer deux odeurs différentes. Pour chaque paire d'odeurs, l'animal doit apprendre à se diriger vers une odeur et éviter l'autre. Ils ont mis en évidence que certains neurones deviennent sélectifs à certaines paires d'odeurs. De plus, les cellules sont sensibles à la correspondance entre un orifice particulier et une odeur : une cellule répond pour l'odeur 1 venant de l'orifice A et pour l'odeur 2 venant de l'orifice B, mais pas si on inverse les odeurs. Ces résultats suggèrent que la réponse des neurones établit une relation entre odeurs spécifiques, leur localisation spatiale et le fait qu'elles se manifestent ensemble ou séparément. Eichenbaum et son équipe proposent que les cellules pyramidales de l'hippocampe répondraient à une configuration de variables comportementales, environnementales et spatiales et non pas à la simple position passive de l'animal dans son environnement. L'espace serait alors considéré comme étant une des nombreuses variables prises en compte par l'animal dans sa performance comportementale. Dans des situations où l'animal n'a pas de tâche spécifique à réaliser (comme c'est le cas des situations mises au point par Muller et ses collaborateurs), la composante spatiale serait la seule composante possible émergeant de l'activité des cellules qui leur confère les propriétés bien connues de décharge « spatiale ». L'ambiguïté sur la nature du codage porté par les cellules de lieu vient en partie du fait que tout comportement de l'animal a un aspect spatial incontournable.

Wood, Dudchenko et Eichenbaum ont montré que l'activité de certaines cellules de l'hippocampe était corrélée à des éléments d'une tâche de discrimination d'odeurs dans une procédure d'appariement ou de non appariement à un modèle,

¹³ Eichenbaum, Dudchenko, Wood, Shapiro et Tanila (1999) 'The hippocampus, memory, and place cells: is it spatial memory or a memory space?'

indépendamment de l'emplacement où la tâche était réalisée par l'animal (Wood et al., 1999). Ces données ont conduit Eichenbaum à proposer que les cellules de l'hippocampe codent des conjonctions de stimuli et de caractéristiques comportementales, chaque conjonction constituant un événement (Eichenbaum et al., 1999). Ce codage repose sur la mise en jeu de mécanismes hebbiens de renforcement des poids synaptiques résultant de la répétition des événements. La mise en place de ces connexions renforcées permet de constituer, à l'échelle de la population, des réseaux de cellules qui codent la succession des événements survenant au cours d'une tâche. La séquence temporelle de ces événements particuliers constitue un épisode. Des épisodes différents peuvent cependant avoir des éléments en commun. Par exemple, l'apparition d'un stimulus particulier associé à une récompense à un endroit donné est une configuration qui peut être commune à différents épisodes. L'hypothèse est qu'une cellule codant pour une configuration spécifique peut être active pour des épisodes distincts, d'où l'idée de cellule nodale. Cette représentation « nodale » relie les épisodes qui partagent des éléments communs. On retrouve là, l'idée que la représentation globale de l'environnement est, non seulement constituée de multiples représentations, c'est-à-dire de multiples configurations d'activité sous-tendues par des « assemblées » de neurones mais également des représentations de l'organisation dynamique des transitions entre ces configurations (figure 2.22).

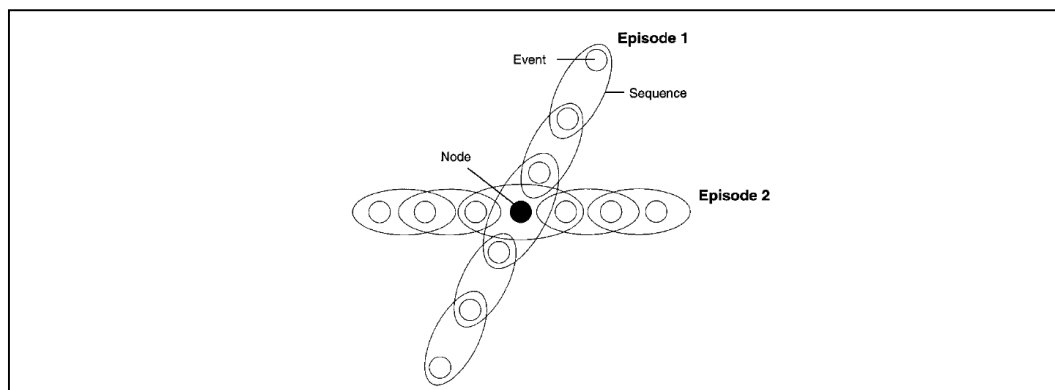


Figure 2.22. Modèle présentant la conjonction de deux épisodes en mémoire épisodique en un point nodal. Dans ce modèle, les cellules de l'hippocampe codent les représentations d'événements et de séquences d'événements. Des épisodes différents sont donc codés par des réseaux de neurones différents, qui peuvent partager des éléments en commun, au niveau des nœuds. Ces nœuds sont codés par des cellules situées à l'intersection de deux réseaux et ils permettent de faire des rapprochements entre épisodes lorsque la tâche l'exige (d'après Eichenbaum et al., 1999).

Eichenbaum propose une théorie du fonctionnement de l'hippocampe qui s'oppose en quelque sorte à l'hypothèse « spatiale » car elle ne considère l'espace que comme un composant particulier de la mémoire épisodique. Ses observations pourraient représenter un argument nuanciant la théorie selon laquelle l'hippocampe serait dévolu au traitement pur de l'espace.

Une des prédictions de la théorie d'Eichenbaum est qu'une cellule doit avoir une activité différente si, pour un même lieu, l'animal est engagé dans des comportements différents. Par exemple, se diriger vers un lieu pour recevoir une récompense et revenir de ce même lieu vers le point de départ constituant, selon Eichenbaum, des épisodes distincts. En conséquence, quand l'animal passe dans le champ de réponse d'une cellule donnée, la décharge de cette cellule devrait varier en fonction de la signification de ce déplacement, c'est-à-dire en fonction de ce que l'animal a fait et va faire au cours de cet épisode particulier. Cette vision des choses s'oppose à la théorie spatiale qui considère que l'activité des cellules de lieu est indépendante de l'action que l'animal vient de faire et de celle qu'il va effectuer. Par exemple, des enregistrements de neurones de l'hippocampe et du cortex entorhinal lorsque les animaux parcourent en allers et retours les voies d'un labyrinthe en U pour obtenir de la nourriture montrent que la fréquence d'activité de ces neurones diffère pour une position spatiale identique en fonction de ce qu'a fait l'animal et de ce qu'il va faire (Franck et al., 2000 ; Ferbinteanu et Shapiro, 2003, Ferbinteanu et al., 2006). Malgré quelques résultats contradictoires (Lenck-Santini et al., 2001), la plupart des travaux montre que l'activité des cellules de lieu est non seulement corrélée à l'emplacement qu'occupe l'animal dans l'environnement mais aussi à l'encodage rétrospectif ou prospectif.

En dépit des prises de position tranchées des auteurs qui soutiennent les uns la théorie spatiale, les autres la théorie mnésique, il me semble que l'enjeu des recherches doit être de réconcilier ces deux théories et résoudre les paradoxes qui émergent des résultats expérimentaux. En effet, en regard de la masse des données acquises, on ne peut qu'admettre que les cellules de l'hippocampe codent pour différents aspects de l'environnement et de l'expérience de l'animal. Ce sont, en particulier les conditions de cette expérience qu'il convient d'approfondir. Il est flagrant de constater que la nature des tâches que doivent réaliser les animaux est très différente d'une étude à l'autre. En schématisant un peu, on a, d'un côté, des situations dans lesquelles l'animal n'a pas de tâche explicite à réaliser (tous les travaux du groupe de Muller) et de l'autre, des situations requérant un apprentissage long et une charge cognitive plus importante (les situations d'appariement à un modèle pour la discrimination d'odeurs utilisées par le groupe d'Eichenbaum). La moindre des différences entre ces situations comportementales

d'apprentissage pourrait expliquer le contraste des résultats. Ainsi, il n'est pas très étonnant de trouver que les cellules de l'hippocampe sont corrélées au sens des déplacements dans une tâche où l'animal doit apprendre à naviguer d'un point de départ à un but pour obtenir une récompense alors qu'elles ne le sont pas quand le sens des déplacements n'est pas pertinent avec la tâche (Markus et al., 1995).

Il apparaît donc qu'une des fonctions essentielles de l'hippocampe serait d'encoder un contexte nécessaire au traitement de la mémoire épisodique en fournissant un cadre spatial aux souvenirs. Cette conclusion ne préjuge en rien de la fonction plus générale que pourrait avoir l'hippocampe dans un mode de traitement de l'information dont celui de l'espace représenterait un exemple prototypique.

Une autre hypothèse qui permet de nuancer la théorie « spatiale » et qui appuie par conséquent la théorie d'Eichenbaum est que l'hippocampe serait, en plus de ses implications spatiales, la structure clef des associations temporelles entre les représentations. A partir de données récentes émanant d'études sur la neurogénèse du gyrus denté chez l'adulte, Aimone, Wiles et Gage (2006) ont développé une hypothèse selon laquelle les cellules du gyrus denté néoformées (immatures) participeraient à l'organisation des souvenirs dans le temps. Grâce à leurs caractéristiques électrophysiologiques propres (seuil d'activation plus faible, potentiels de repos plus haut et niveau accru de potentialisation à long terme), se distinguant de l'autre population de cellules (cellules matures) du gyrus denté, ces cellules immatures permettraient de faire le lien temporel entre deux événements codés séparément dans le CA3 (figure 2.23). Cette propriété ne remettrait pas en cause le rôle de séparateur de représentations du gyrus denté, car cet effet de 'liant' temporel ne serait que transitoire (1 à 2 mois), le temps qu'une nouvelle génération de cellules se mette en place. Cette hypothèse offre des outils pour comprendre comment les souvenirs s'organisent dans le temps (figure 2.24), même si le modèle présente des failles. Il est en effet assez difficile de concevoir que deux souvenirs ne puissent plus être associés au delà du temps de génération des cellules granulaires. La mise en relation d'événements plus distants temporellement doit être probablement assurée par des mécanismes différents.

Ainsi, les réseaux neuronaux hippocampiques seraient impliqués non seulement dans une mémoire spatiale mais aussi temporelle, les deux aspects étant indissociables dans la formation de la mémoire des événements (épisodes). Approfondir la compréhension de la façon dont l'hippocampe traite les aspects temporels permettrait de construire un pont entre la navigation spatiale et la

mémoire épisodique. La mémoire épisodique est la mémoire qui classe les événements dans un réseau spatio-temporel qui permet de les regrouper, tout en les distinguant les uns des autres, puis de les retrouver à partir de cette adresse. L'importance probablement démesurée accordée aux aspects spatiaux vient probablement du fait que le lieu où un événement s'est produit offrirait un indice majeur de récupération d'un épisode, puisque tout événement possède un aspect spatial incontournable. La représentation de l'espace constituerait en effet, chez les espèces mobiles, le premier mode d'organisation de la mémoire des événements.

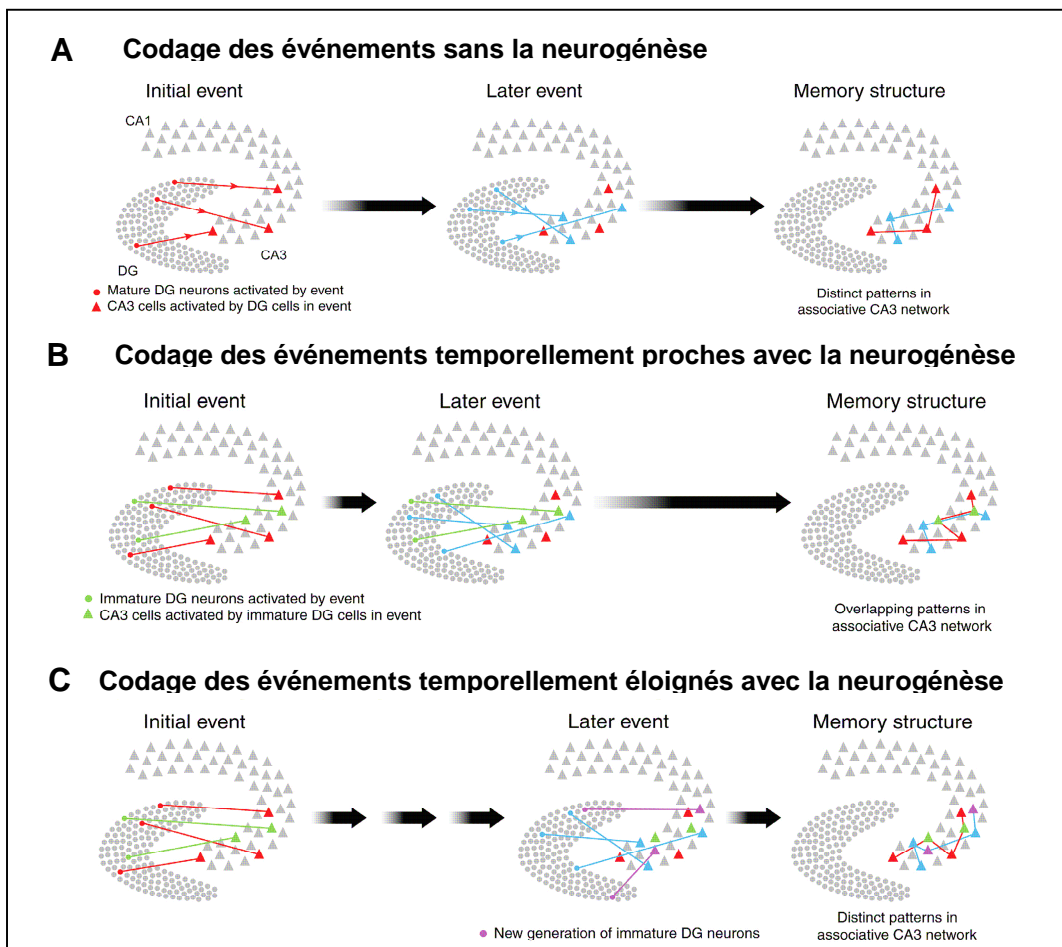


Figure 2.23. Les cellules néoformées du gyrus denté (neurogénèse) permettent d'organiser les souvenirs dans le temps. A. Sans neurogénèse, deux événements distincts activeraient deux populations distinctes de cellules granulaires matures du gyrus denté (en rouge et en bleu), qui activeraient elles mêmes des populations bien différentes dans la région CA3. B. Avec la neurogénèse, deux événements proches dans le temps (séparés d'une semaine par exemple), activeraient deux populations séparées de cellules granulaires matures (rouge et bleu), mais en plus les deux événements activeraient la même population de cellules immatures dans le gyrus denté (en vert). Par conséquent, au niveau de la région CA3, les patterns d'activité sont bien séparés mais se recoupent partiellement. C. Les événements sont temporellement éloignés et activent donc des populations distinctes de cellules granulaires immatures (verte et violette). Par conséquent, les souvenirs formés dans CA3 ne se recoupent pas. Modifié d'après Aimone et al., 2006.

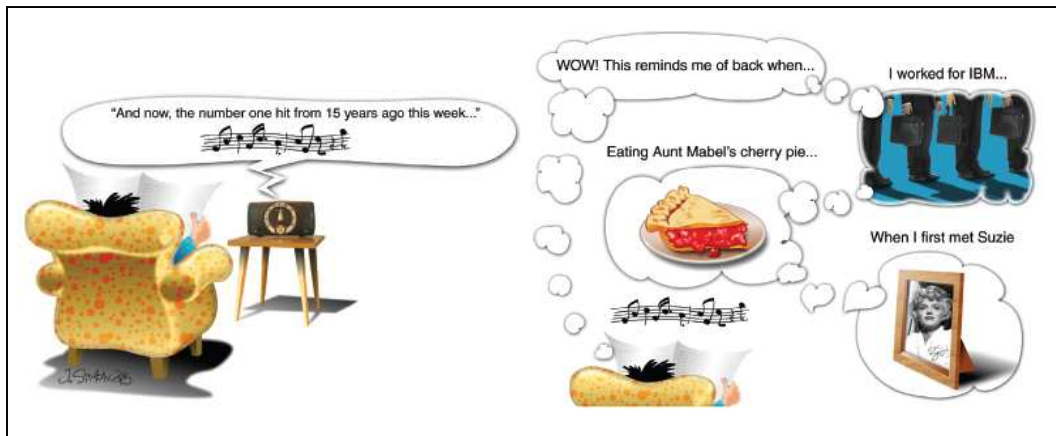


Figure 2.24. Dessins illustrant les associations temporelles mises en mémoire à long terme. La réactivation d'un vieux souvenir (par exemple, une chanson), peut induire le rappel de nombreux autres souvenirs formés en même temps. Selon la théorie, ces souvenirs auraient été encodés grâce à un même ensemble de neurones nouvellement formés du gyrus denté, même si le rappel dépendrait plutôt de l'hippocampe. Les souvenirs seraient regroupés dans une période de temps correspondant au temps de maturation des cellules nouvellement formées du gyrus denté. La possibilité de se remémorer une situation à partir d'une chanson, d'une odeur, ou d'une sensation, très bien illustrée par la madeleine de Proust, semble être la caractéristique clé de la mémoire épisodique. D'après Aimone et al., 2006.

Troisième partie

Mémoire spatiale et flexibilité des cellules de lieu

Chapitre 3

Les mécanismes fondamentaux de la flexibilité de la représentation spatiale

3.1. « Remapping » ou recodage de l'environnement

3.1.1. Description du phénomène

On sait que l'organisation spatiale des champs d'activité d'une population de cellules de lieu est stable dans un environnement donné. En effet, une fois la configuration d'activité mise en place dans un environnement (les champs d'activité se forment en quelques minutes : Wilson et McNaughton, 1993), elle est ré-activée à chaque fois que le rat est remis dans le même environnement et cela plusieurs semaines voire plusieurs mois après la première exposition (Thompson et Best, 1990). Muller et ses collaborateurs ont examiné ce qu'il advient de cette organisation quand on passe l'animal d'un environnement familier à un environnement nouveau. Ils ont montré que lorsque l'on transporte l'animal d'une arène circulaire à une arène carrée, la configuration d'activité change radicalement (Muller et Kubie, 1987). Par exemple, une cellule présentant un champ de réponse accolé à la paroi de l'arène circulaire a un champ de réponse situé au centre de l'arène carrée. Certaines cellules deviennent silencieuses alors que d'autres deviennent actives. Ce phénomène rencontré dans la littérature sous le nom de « remapping » (Muller et Kubie, 1987 ; Bostock et al., 1991 ; Wilson et McNaughton, 1993 ; Kentros et al., 1998 ; Cressant et al., 2002) ou encore d'« orthogonalisation » (Marr, 1969 ; McNaughton et al., 1987 ; Leutgeb et al., 2004) indique que l'animal élabore des représentations neurales distinctes pour des environnements différents (Figure 3.1).

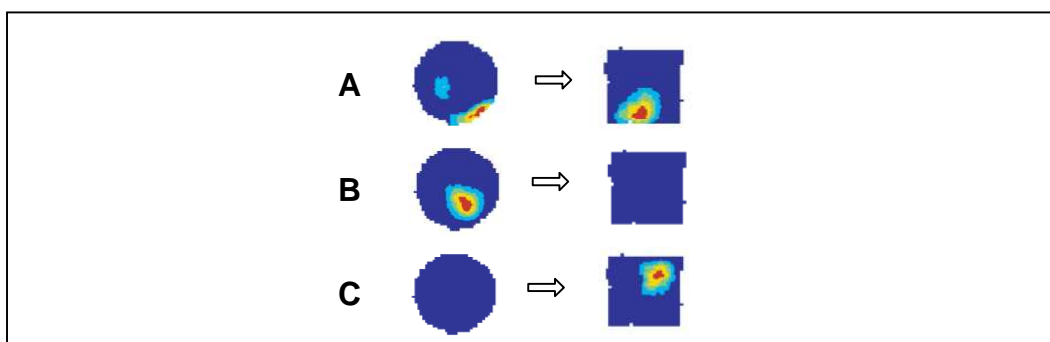


Figure 3.1. Cartes d'activités de trois cellules qui présentent un recodage de leur activité spatiale. A. Cellule active dans les deux environnements (circulaire et carré) mais dont le champ d'activité se trouve situé à deux endroits différents dans chaque environnement (sur le bord dans le rond et plus central dans le carré). B. Cellule active dans l'environnement circulaire mais pas dans l'environnement carré C. ou inversement. Modifié d'après Lever et al. (2002).

Un environnement particulier serait donc caractérisé par la configuration d'activité d'un ensemble de cellules. Chaque cellule peut appartenir à plusieurs représentations et coder donc pour plusieurs environnements. Pour chaque environnement, il y aurait 300.000 à 500.000 cellules actives parmi les 1.000.000 de cellules pyramidales existantes. Il existerait donc un nombre infini de combinaisons possibles de cellules pour définir un environnement (théorie à modérer par la théorie des attracteurs, voir partie 3.2) (figure 3.5 de synthèse). Ces hypothèses soulèvent la question de la « charge mnésique » du système des cellules de lieu : combien d'environnements la population des cellules de lieu peut-elle stocker ? Les expériences réalisées portent en général sur deux ou trois environnements distincts. On imagine que les capacités du système excèdent largement ce nombre, mais aucune donnée aujourd'hui ne peut appuyer cette hypothèse.

Le « remapping » peut être induit par le changement de géométrie, mais également par d'autres types de modifications de l'environnement à savoir, le changement de la couleur du dispositif (Bostock et al., 1991 ; Kentros et al., 1998 ; Jeffery et al., 2003), le changement de l'orientation du dispositif par rapport aux indices éloignés (Cressant et al., 2002), le changement de la tâche comportementale (Markus et al., 1995 ; Kobayashi et al., 1997 ; Wood et al., 2000 ; Moita et al., 2004), ou même le changement de l'état interne de l'animal dû à un stress (Moita et al., 2004 ; Kim et al., 2007).

La formation de la représentation d'un environnement nouveau peut être extrêmement rapide, dès les premières minutes d'exposition (Muller et Kubie, 1987), ou selon des études plus récentes, peut demander une exposition répétée à l'environnement nouveau sur une période de plusieurs jours (Lever et al., 2002) (figure 3.2). Qu'est-ce qui peut expliquer la contradiction de ces résultats ? Dans les deux études, les expérimentateurs font passer les animaux d'un environnement (rond) à un autre environnement (carré). Muller et Kubie, qui observent un *remapping* immédiat, avaient préalablement familiarisé les animaux aux environnements rond et carré, avant d'enregistrer l'activité des mêmes cellules dans les deux environnements. Dans l'expérience de Lever et al. (2002), dans laquelle l'activité des cellules de lieu ne présente un *remapping* qu'après plusieurs jours d'exposition aux deux environnements, aucun des deux environnements n'avait été visité avant le début des enregistrements. La dissociation entre deux environnements différents nécessiterait donc une période d'apprentissage.

Ces conclusions sont cohérentes avec les précédents résultats de Bostock et al. (1991), puisqu'ils montraient déjà que le remapping n'est pas immédiat pour certains rats, mais qu'il requérait une expérience de l'animal au changement.

Comme dans l'étude de Lever et al., les rats n'étaient pas familiarisés avec les deux environnements et n'ont donc pas été entraînés à les discriminer avant les enregistrements.

L'étude de Wilson et al. (1993) met en évidence un *remapping* immédiat dans un environnement jamais visité, ce qui paraît en contradiction avec cette conclusion. Cependant, les auteurs ne placent pas les animaux dans les mêmes conditions que dans l'expérience de Lever et al. (2002), puisqu'au lieu de transporter passivement les animaux d'un environnement à un autre, les expérimentateurs baissent une barrière pendant que l'animal explore un environnement familier, ce qui lui donne accès à l'environnement nouveau. La continuité dans l'exploration permettrait à l'animal de bien distinguer les deux environnements, probablement sur la base d'une intégration de trajet (Fuhs et al., 2005).

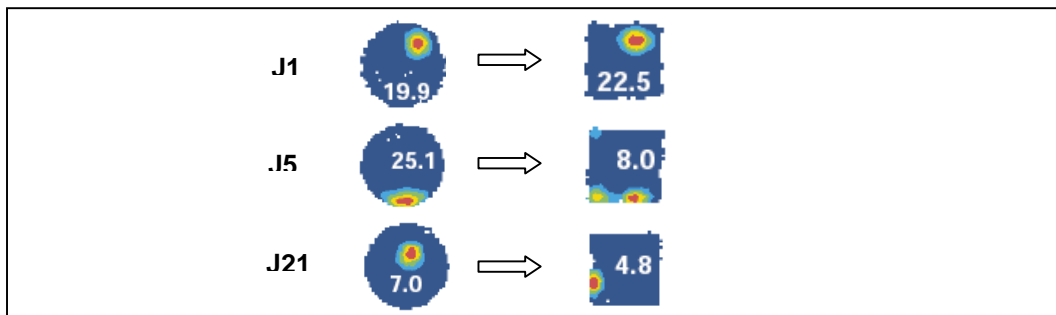


Figure 3.2. Le *remapping* n'est pas toujours immédiat. L'activité de trois cellules différentes chez un même rat est enregistrée le jour 1 (J1), le jour 5 (J5) et le jour 21 (J21). Les cartes d'activité montrent que le recodage spatial n'est pas immédiat puisqu'il n'intervient dans cet exemple qu'entre le 5^{ème} et le 21^{ème} jour d'expérience aux deux environnements. Avant, la plupart des champs d'activité sont identiques entre le rond et le carré. L'expérience est donc nécessaire pour produire l'élaboration de représentations distinctes entre les deux environnements. Les chiffres blancs correspondent à la fréquence de décharge moyenne du champ. D'après Lever et al., 2002.

Lever et al. (2002) se sont aussi demandé si le *remapping* était un phénomène brutal ou au contraire graduel. Ils ont donc examiné la période d'installation (lors de la transition d'une représentation à une autre) du *remapping* à l'échelle de la cellule. Les champs initialement identiques (*homotopiques*) entre l'environnement carré et l'environnement rond peuvent devenir différents selon trois grands schémas (figure 3.3). Dans la majorité des cas (schéma 3), il y a une diminution progressive de la fréquence de décharge jusqu'à un arrêt total dans un environnement, tandis que la fréquence du champ dans l'autre environnement se maintient. D'autres cellules développent un champ secondaire dans un des environnements (dont la fréquence augmente progressivement), en même temps que l'ancien champ diminue en fréquence (jusqu'à disparaître) (schéma 1). Le schéma 2, plus rarement observé, illustre le décalage du champ à un autre endroit d'une session d'enregistrement à l'autre. Dans tous les schémas observés, le

processus de divergence peut avoir lieu sur plusieurs essais dans la même journée ou sur plusieurs jours.

Donc, globalement, les représentations divergent plutôt de façon progressive.

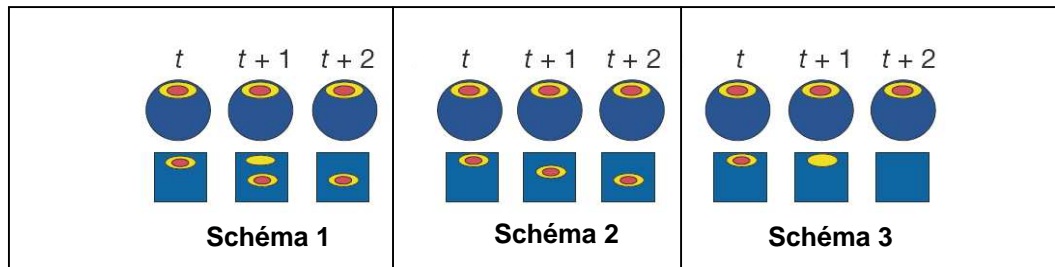


Figure 3.3. Schémas du développement progressif de deux représentations spatiales distinctes à l'échelle de la cellule : trois schémas possibles. D'après Lever et al., 2002.

Ensuite, une fois que le remapping a été observé chez un animal, les rats ont été remis dans leur cage sans exposition aux environnements pendant une longue période (jusqu'à 39 jours). Lors de la ré-exposition aux environnements, la plupart des cellules continue à discriminer correctement les deux environnements, ce qui suggère que l'animal a bien appris à différencier les deux environnements, et ceci de manière durable (Lever et al., 2002 ; Bostock et al. 1991).

3.1.2. Les différents types de remapping décrits dans la littérature

Remapping rotationnel

Dans un recodage rotationnel, le champ d'activité subit une rotation angulaire imprédictible par rapport aux indices présents dans l'environnement (carte, objets), tout en conservant les mêmes relations de distances avec les parois de l'arène et les mêmes caractéristiques de décharge initiales (fréquence, taille, forme) (Muller et Kubie, 1987) (figure 3.4). Ce remapping correspondrait probablement à une désorientation de la représentation plutôt qu'à la formation d'une nouvelle représentation. Il a été démontré qu'il existe une forte relation entre la rotation des champs d'activité des cellules de lieu et la direction préférée des cellules de direction de la tête (Knierim et al., 1995). Ce type de recodage pourrait donc être lié à une erreur du système de direction de la tête.

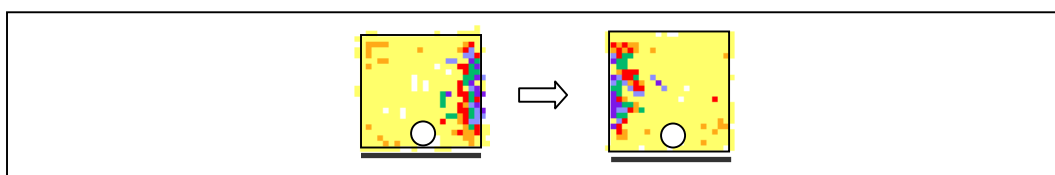


Figure 3.4. Exemple de recodage rotationnel. Le champ subit une rotation de 180°, mais présente toujours les mêmes caractéristiques de taille, de forme, de fréquence (données issues de l'étude n°2).

Remapping fréquentiel

Leutgeb et al. (2005) ont été les premiers à mettre en évidence le *remapping* de fréquence. Ils ont montré que certains types de modifications environnementales (détaillées dans la partie suivante) (figure 3.7) peuvent induire une modification du taux de décharge des neurones, sans pour autant que la localisation des champs d'activité ne soit modifiée. Ce phénomène a été décrit sous le terme de « rate remapping » et a ensuite été observé dans d'autres études (McHugh et al., 2007 ; Kim et al., 2007).

Remapping global

Ce *remapping* implique à la fois une modification imprédictible de la localisation et une modification de la fréquence d'activité des champs lorsque l'animal passe d'un environnement à un autre. Certaines cellules qui sont actives dans un environnement peuvent devenir inactives dans l'autre environnement (« disparition »), et d'autres cellules qui sont inactives dans un environnement, peuvent devenir actives dans l'autre (« apparition »). Le terme a été utilisé par Leutgeb et al. (2005) pour le distinguer du *remapping* fréquentiel (figure 3.5).

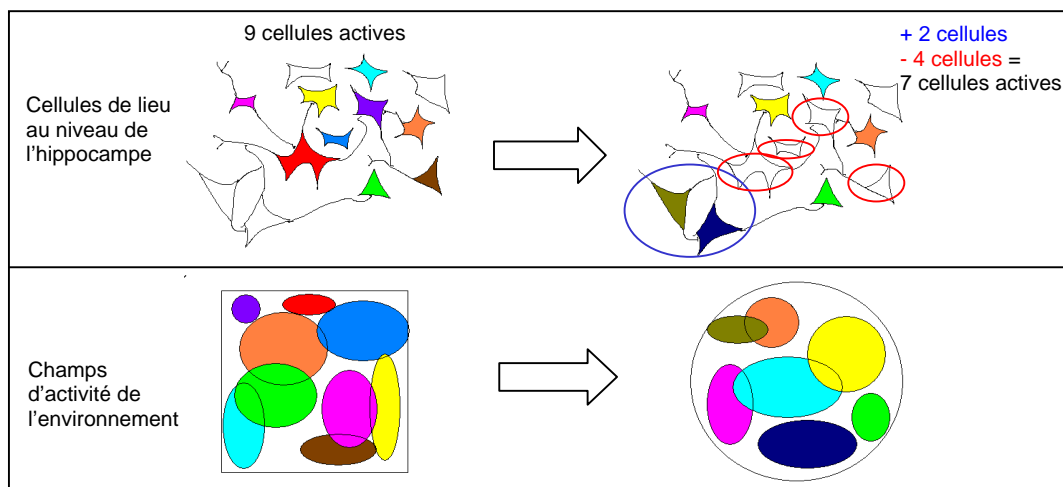


Figure 3.5. Schéma de synthèse d'une population de cellules de lieu de l'hippocampe (en haut) et de leur champ d'activité correspondant (en bas) lors d'un « remapping » global. Un ensemble de 9 cellules est actif dans l'environnement carré. Lorsque l'animal est transporté dans un autre environnement (rond), une nouvelle combinaison de cellules est activée : 5 cellules sont actives dans les deux environnements mais ne codent pas pour le même endroit dans chaque environnement ; 4 cellules ont arrêté de décharger et 2 cellules qui n'étaient pas actives dans le carré sont actives dans le rond. A chaque fois que l'animal sera remis dans le même environnement, le même ensemble de cellules sera réactivé. Notons que deux cellules proches dans l'hippocampe ne codent pas forcément pour deux champs proches dans l'environnement.

Remapping local

Lors de l'enregistrement simultané de plusieurs cellules, les transformations de l'environnement peuvent induire le remapping (disparition, apparition, changement d'endroit) des champs qui se situent à proximité de la modification,

sans forcément affecter la décharge et la stabilité des champs éloignés (Muller et Kubie, 1987 ; Muller et al., 1991 ; Fyhn et al., 2002 ; Rivard et al., 2004 ; Paz-Villagran et al., 2004 ; Lenck-Santini et al., 2005). Par exemple, Rivard et al., (2004) montrent que les champs situés à proximité d'une barrière transparente placée dans l'arène d'enregistrement tournent de façon équivalente à la rotation de la barrière, ou encore suivent la translation de la barrière, alors que les champs situés près de la paroi de l'arène ne sont généralement pas affectés par la manipulation.

En résumé, les informations fournies par la forme, la couleur et la texture d'un environnement sont utilisées par l'animal pour construire une représentation spatiale de cet environnement. Si ces caractéristiques sont modifiées, le système de cellules de lieu va traduire cette modification par un recodage de l'activité neuronale (rotationnel, fréquentiel et/ou positionnel), aboutissant à une nouvelle représentation spatiale. Le remapping servirait donc à construire des représentations différentes correspondant à des contextes distincts dans lesquels s'inscrit le comportement spatial de l'animal.

3.2. Pattern separation/completion et adaptation des cellules de lieu aux modifications environnementales

Selon Héraclite d'Ephèse, philosophe grec, « on ne se baigne jamais deux fois dans le même fleuve ». Comment reconnaît-on un endroit, même lorsqu'il est différent ?

Comment le système des cellules de lieu « considère »-t-il qu'un environnement est similaire ou différent d'un autre ? Comment le cerveau peut-il empêcher à la fois les interférences entre des configurations de stimuli (patterns) distinctes ayant des éléments en commun et à la fois identifier des configurations identiques dans un monde physique en perpétuel changement ?

3.2.1. Théorie des attracteurs

Skaggs et McNaughton (1998) ont étudié l'activité des cellules de lieu dans deux environnements visuellement similaires, mais spatialement séparés par un couloir. Ils montrent que pour une grande partie des cellules les champs d'activité présentent un remapping d'un environnement à l'autre. Ils concluent que le système hippocampique est capable de transformer des entrées sensorielles similaires en des représentations internes différentes. La tendance du système des cellules de lieu à réaliser un remapping complet, malgré des changements mineurs

au niveau de l'entrée sensorielle (les informations extérieures) est nommée 'pattern separation' (Bostock et al., 1991 ; Kentros et al., 1998 ; Markus et al., 1995 ; Moita et al., 2004).

Inversement, O'Keefe et Conway (1978) montrent que la majorité des champs d'activité sont stables même si deux des quatre objets accrochés aux rideaux entourant le labyrinthe en T sont retirés. Le système hippocampique est donc capable de maintenir la représentation spatiale malgré le retrait d'indices pertinents de l'environnement. Ce processus, nommé 'pattern completion', est décrit dans de nombreuses études (Mizumori et al., 1989 ; Quirk et al., 1990 ; Nakasawa et al., 2002). Il éviterait au système des cellules de lieu de construire systématiquement une nouvelle représentation en réponse à la moindre modification environnementale, ce qui préviendrait probablement d'une « saturation » du système.

Ces études montrent qu'il existe au sein du système de cellules de lieu, une compétition dynamique entre deux processus complémentaires: la *pattern separation* et la *pattern completion*. Ces termes sont difficilement traduisibles en français et seront donc utilisés tels quels. Le *remapping*, qui pourrait être l'expression de la *pattern separation*, devrait permettre à l'animal de créer des représentations indépendantes de deux contextes partageant des similitudes, ce qui diminuerait par conséquent les chances de produire une réponse inappropriée. Par contre, si chaque changement mineur de l'environnement faisait produire à l'hippocampe systématiquement une nouvelle représentation, une telle séparation serait néfaste. Donc, la *pattern separation* peut être modérée par la *pattern completion*, de telle manière qu'une légère altération de l'environnement est ignorée par le système, qui peut alors rappeler la représentation initiale plutôt que d'en construire une nouvelle.

Une étude récente a permis de décrypter certaines des règles qui gouvernent ces processus de *pattern separation* / *pattern completion*. Wills et al. (2005) ont enregistré l'activité des cellules de CA1 chez des rats en utilisant une série d'environnements issus d'un « morphing » entre un rond et un carré. La géométrie des environnements varie donc du carré au rond en passant par 4 octogones intermédiaires dont la forme se rapproche plus d'un carré, ou plus d'un rond (figure 3.6 I). Les rats étaient d'abord familiarisés à un environnement rond et à un environnement carré, différant par la forme, la couleur, la texture et l'odeur afin d'augmenter les chances de voir apparaître un remapping immédiat. Ensuite Wills et al. ont exposé les rats à la série d'environnements du morphing dans un ordre pseudo-aléatoire. Qu'advient-il des champs d'activité quand le rat est exposé aux environnements intermédiaires ? D'abord, Wills et al. ont montré que

la plupart des champs adopte soit le pattern d'activité trouvé dans le rond, soit le pattern du carré. Les cellules basculent d'un pattern à l'autre au niveau de la forme à mi-chemin entre le rond et le carré. De plus, toutes les cellules enregistrées simultanément montrent ce changement brutal au même point dans la séquence des octogones : elles répondent donc de façon cohérente au changement. Le fait que le système hippocampique adopte un des deux états possibles entre les deux formes bien apprises (rond ou carré) suggère l'opération de réseaux attracteurs (Rolls et Treves, 1998 ; Tsodyks, 1999 ; Rolls, 2007). Cette propriété majeure des représentations hippocampiques est dépendante du processus de *pattern separation*, qui permet la transition abrupte entre l'environnement carré et l'environnement rond malgré le changement subtil dans la géométrie des deux environnements.

Ensuite, ces résultats dévoilent que le système hippocampique des cellules de lieu peut construire des catégories (attracteurs) dans lesquelles les représentations de chaque forme intermédiaire convergent (Samsonovitch et McNaughton, 1997). Ces propriétés de *pattern completion* sont utiles pour raccrocher de nouvelles expériences à des contextes familiers, mais elles doivent être accompagnées de mécanismes additionnels qui permettent l'enregistrement progressif de nouveaux contextes. On peut imaginer, qu'avec des expositions répétées, la géométrie d'un nouvel environnement devrait pouvoir, à terme, mener à un nouveau pôle attracteur, ce qui permettrait l'encodage de nouvelles représentations et donc de nouveaux souvenirs (Lever et al., 2002) (figure 3.6 II).

L'étude de Wills et al. (2005) apporte la preuve la plus solide, à ce jour, de la présence d'états attracteurs qui suggère un fonctionnement dynamique non linéaire au sein de l'hippocampe

Si le réseau hippocampique n'était composé que d'attracteurs discontinus, les assemblées neuronales n'arriveraient probablement pas non plus à encoder le flux continu d'informations, caractéristique d'un épisode. Plusieurs observations suggèrent que les cellules de lieu peuvent intégrer des changements graduels au niveau de représentations préexistantes. La dégradation ou le remplacement de certaines parties de l'environnement semble affecter seulement les champs d'activité à proximité de la modification environnementale (*local remapping*), alors que la représentation du reste de l'environnement n'est pas altérée (Muller et Kubie, 1987 ; Muller et al., 1991 ; Fyhn et al., 2002 ; Rivard et al., 2004 ; Paz-Villagran et al., 2004 ; Lenck-Santini et al., 2005). Dans une étude, Leutgeb et al. (2005a) ont exposé les animaux à des environnements provenant d'un morphing entre un environnement rond familier et un environnement carré familier, mais contrairement à Wills et al., de façon ordonnée et non pas pseudo aléatoire. Ils

n'observent pas de transition abrupte entre les deux représentations familières, mais plutôt une transition progressive. Ces données suggèrent que le réseau hippocampique peut aussi représenter l'information de manière continue.

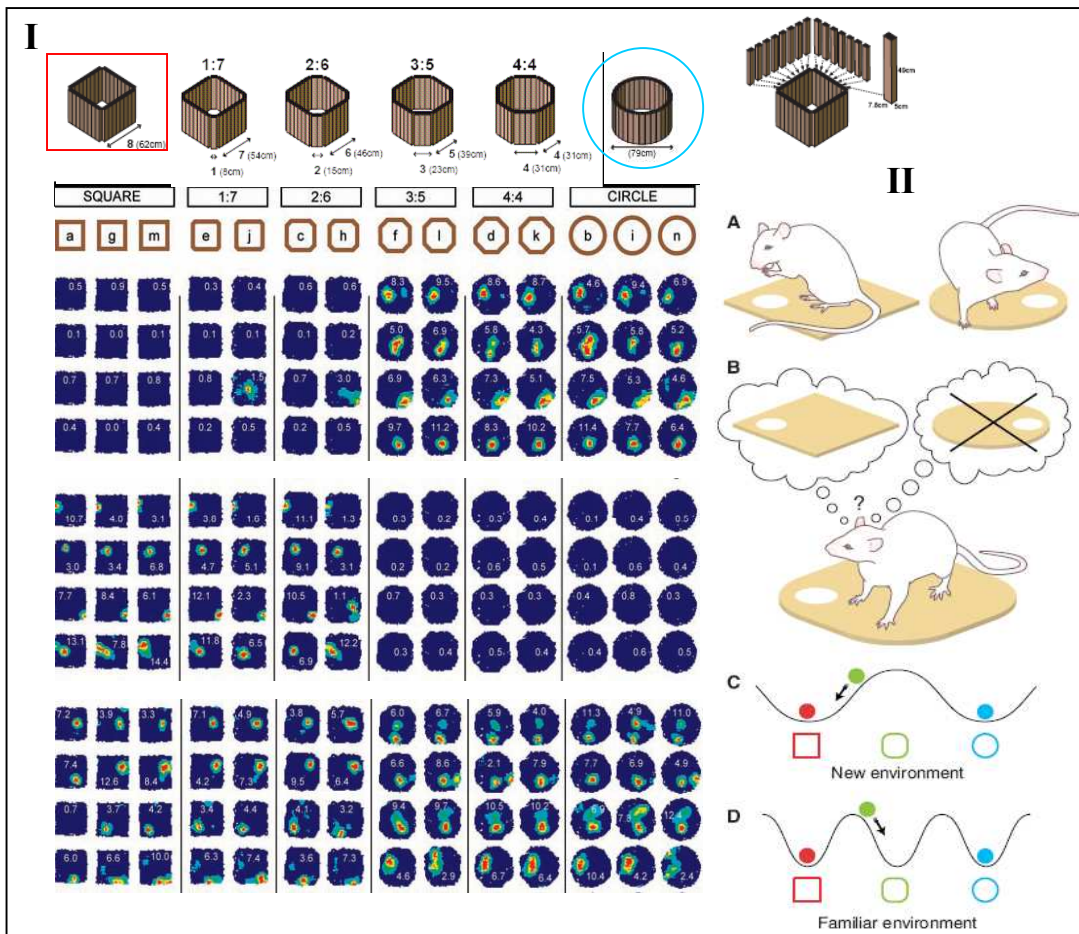


Figure 3.6. Etats attracteurs dans l'hippocampe. I. Changement abrupt et cohérent du pattern 'carré' (rouge) au pattern 'rond' (bleu) lors d'expositions à une série d'octogones issus du morphing entre le rond et le carré. Dix-sept cellules sur 20 (12/17 présentées) ont atteint le critère du remapping, qui s'effectue pour toutes les cellules au même point, entre l'environnement 2:6 et 3:5 (flèche). L'ordre dans lequel les octogones ont été présentés est indiqué par les lettres allant de a à n. **II. A.** Les champs d'activité (ellipse blanche) sont différents entre l'environnement rond et le carré. **B.** Quand le rat est exposé à une forme intermédiaire (octogone), tous les champs adoptent simultanément un des deux pattern d'activité appris (ici, le carré). **C.** Cette observation suggère que l'état d'activité des cellules de lieu peut être interprété en terme de mécanismes attracteurs. **D.** Avec l'expérience, de nouveaux attracteurs peuvent se développer, d'où la représentation d'une forme intermédiaire. Figure de gauche, d'après Wills et al., 2005. Figure de droite, d'après Poucet et Save, 2005.

Afin de mieux comprendre le phénomène de séparation de pattern, Leutgeb et al. (2005) ont enregistré les cellules de lieu de CA3 pendant que le rat était testé soit dans la même boîte située dans deux pièces différentes, soit dans deux boîtes différant par leur couleur situées dans la même pièce. Dans la condition « même boîte/pièces différentes », les champs d'activité changent de position et de fréquence de décharge (*global remapping*). Dans la condition « boîtes

différentes/mêmes pièces », seul le taux de décharge change, sans modification de la localisation du champ d'activité (*rate remapping*) (figure 3.7).

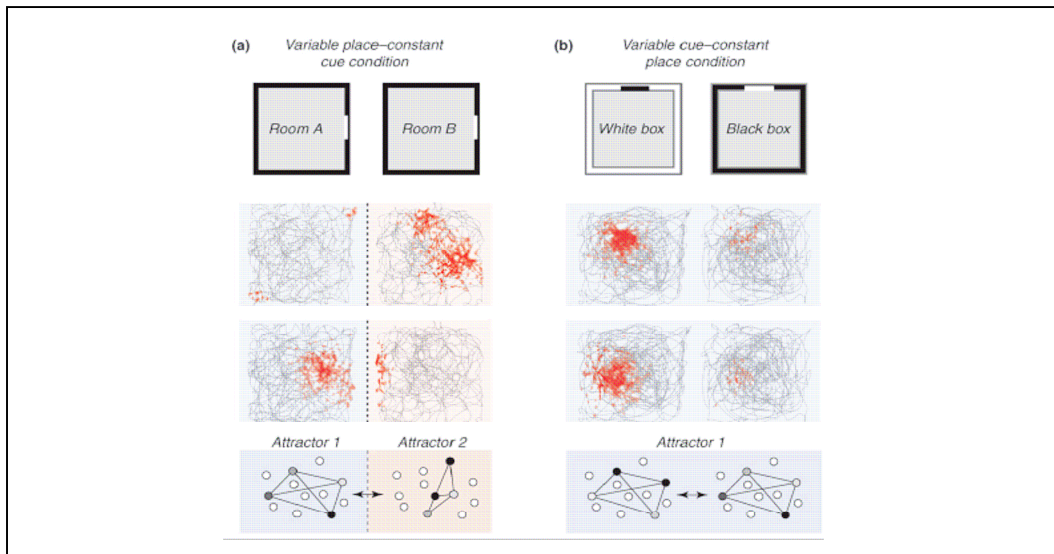


Figure 3.7. Les cellules de lieu véhiculeraient deux codes indépendants : un pour les informations spatiales et un autre pour les informations épisodiques. Les potentiels d'action (points rouges) émis par les cellules pyramidales de CA3 ont été enregistrés pendant que le rat explore un environnement carré. Les lignes grises symbolisent le trajet de l'animal. **a.** enregistrement des cellules dans deux pièces différentes, mais dans deux arènes identiques ou **b.** dans une même pièce, mais dans des arènes différentes. Lorsque l'animal est soumis à un changement de pièce (a), il y a un *remapping global* (fréquence et position des champs d'activité), ce qui suggère que deux populations différentes sont recrutées dans chaque pièce (symbolisé en bas par la bascule entre l'attracteur 1 et 2). Quand seulement les indices locaux sont modifiés (b), il y a un changement significatif dans la fréquence de décharge (*remapping fréquentiel*), mais pas de la position des champs (symbolisé par différents états du même réseau attracteur). Ce phénomène a probablement dû être observé auparavant, mais a dû être considéré comme du *remapping* dans les études dans lesquelles seuls des indices ou la tâche étaient altérés, sans que la pièce expérimentale ne soit modifiée (Markus et al., 1995 ; Moita et al., 2004 ; Wood et al., 2000 ; Frank et al., 2000 ; Bower et al., 2005 ; Ferbinteanu et Shapiro, 2003 ; Hollup et al., 2001). Modifié d'après Leutgeb et al. (2005b).

Cette dissociation suggère que la localisation du champ et la fréquence du champ convoient deux types d'informations indépendants. Selon les auteurs, le *remapping fréquentiel* permettrait la formation d'épisodes uniques, tout en maintenant l'intégrité du code pour la localisation spatiale (traduit par des réseaux de neurones identiques), alors que le *remapping global* permettrait la distinction entre des événements similaires, mais se produisant dans des contextes spatiaux différents (traduit par le recrutement d'un autre réseau de neurones).

Les conditions exactes qui permettent d'induire sélectivement un *remapping fréquentiel* restent cependant à être déterminées. Depuis cette étude, d'autres travaux ont réussi à mettre en évidence ce remapping en fréquence (Leutgeb et al., 2006 ; McHugh et al., 2007). Plus récemment, une étude de Kim et al., 2007 a montré que le stress mène à un *remapping fréquentiel* lorsque l'animal est testé dans deux boîtes identiques, situées dans une même pièce. Le stress induit entre

les deux sessions d'enregistrement dans des boîtes identiques pourrait donner à chaque session d'enregistrement une valeur émotionnelle différente, ce qui suffirait à générer une différence contextuelle entre les deux boîtes. Cette étude corrobore l'interprétation de Leutgeb et al. (2005) d'un rôle du *remapping* fréquentiel dans la formation d'épisodes uniques dans un même environnement.

3.2.2. Différence CA1/CA3

Même si les ensembles de cellules de l'hippocampe ont des caractéristiques de réseaux attracteurs, la localisation anatomique de ces attracteurs reste à établir.

Des travaux récents ont permis de fournir des arguments en faveur d'un rôle de CA3 dans la *pattern completion* et dans la *pattern separation*.

Lee et al. (2004) ont enregistré simultanément des cellules dans CA1 et CA3, quand l'animal était confronté à un conflit entre les indices présents dans un environnement familier. En l'absence de l'animal, les indices proximaux étaient tournés dans le sens horaire, et les indices distaux dans le sens anti-horaire. Lorsque l'animal est réintroduit dans cet environnement modifié, dans CA1, une grande partie des cellules présentent un *remapping* alors que dans CA3, les champs d'activité des cellules montrent une certaine résistance au changement de l'environnement. En effet, dans CA3, la position des champs est cohérente soit avec les indices proximaux, soit avec les distaux, mais très peu de cellules répondent par du *remapping*. Donc, lorsque les entrées sont dégradées, CA1 semble répondre en accord avec cette dégradation (*pattern separation*), en créant des nouvelles représentations, tandis que CA3 réagit en faisant de la *pattern completion*.

Cependant, Leutgeb et al. (2004) fournissent des données qui semblent contradictoires avec celles de Lee et al. (2004). En effet, leurs résultats suggèrent que la *pattern separation* est prépondérante dans CA3 par rapport à CA1. Les animaux sont testés dans 3 paires de boîtes dont les caractéristiques varient soit légèrement, soit beaucoup. Chaque paire de boîte est testée dans des pièces différentes. Dans des boîtes différentes et pièces identiques, les cellules de CA1, montrent une bonne stabilité des champs et encore meilleure dans des boîtes identiques et pièces différentes. En augmentant les différences entre les boîtes, on observe tout de même une augmentation équivalente du *remapping* entre les deux boîtes. Par contre, dans CA3, le *remapping* est déjà maximum dans des boîtes identiques et dans des pièces différentes. Ces résultats montrent que les représentations d'environnements « proches » sont séparées dans CA3, alors que les neurones de CA1 sont plus fidèles à leur entrée sensorielle (cortex entorhinal).

L'étude de Leutgeb et al., (2005) confirme les résultats de Leutgeb et al. (2004) montrant un remapping global plus important pour les cellules CA3 que pour les cellules CA1.

La contradiction entre les résultats de Lee et al., (2004) et de Leutgeb et al. (2004) pour CA3 peut s'expliquer simplement par le fait que dans l'expérience de Leutgeb et al., les rats sont testés dans des pièces différentes alors que dans celle de Lee et al., les rats sont soumis à une simple modification des indices de la pièce, ce qui peut expliquer que le système penche vers la *pattern separation* dans le premier cas, et vers la *pattern completion* dans l'autre cas (figure 3.8).

Les résultats de Vazdarjanova et al., (2002) ont permis de résoudre la contradiction des deux expériences précédentes car ils ont mis en évidence qu'il existe une compétition entre les processus de *pattern completion* et de *pattern separation* au sein même de CA3. Cette étude, complémentaire de celle de Leutgeb et al., (2004) a permis, grâce à une méthode d'imagerie de gène immédiat précoce (IEG : *Arc* et *Homer*, utilisés comme des marqueurs temporels de l'activation neuronale), de voir l'activation neuronale dans un environnement et de pouvoir la comparer avec l'activation neuronale dans un autre environnement. *Homer* reflète l'activité neuronale qu'il y a eu 30 minutes avant le sacrifice, et est donc le révélateur de l'activité neuronale du premier environnement visité par l'animal. *Arc* reflète les neurones qui ont été activés juste avant le sacrifice et marque donc l'activation des neurones du deuxième environnement visité. Si le noyau d'une cellule détient les deux IEG, c'est que cette même cellule aura été activée au cours des deux époques et donc dans les deux environnements. Si l'animal est soumis à deux environnements identiques, les mêmes cellules seront activées, et le score de similarité calculé entre les deux environnements sera donc maximal. Ils ont obtenu que pour des environnements partiellement modifiés, le score de similarité est plus important dans CA3 que dans CA1, ce qui signifie que dans CA3 l'assemblée de neurones activée dans un environnement ressemble plus à celle activée dans un autre environnement peu modifié que dans CA1. Ils trouvent, au contraire, que dans deux environnements très différents, le score de similarité est plus faible dans CA3 que dans CA1. A l'image des deux expériences d'enregistrement de cellules de lieu de Lee et al., (2004) et de Leutgeb et al., (2004), l'étude de Vazdarjanova et al., (2002) met en évidence que dans des environnements partiellement modifiés, CA3 traite ces environnements comme plus similaires que ne le fait CA1. Pour des environnements différents, CA3 les traite comme plus différents que CA1.

La contradiction apparente des résultats de Lee et al. et de Leutgeb et al. a été résolue dans un article théorique (Guzowski et al., 2004) faisant l'hypothèse que les cellules de lieu de CA3 sont plus résistantes à des changements subtils de l'environnement que CA1, et les cellules de CA3 séparent des expériences ayant des éléments en commun plus drastiquement que CA1. Ainsi, schématiquement, CA3 répondrait de façon non linéaire aux changements de l'environnement alors que CA1 répondrait de façon linéaire (Guzowski et al., 2004) (figure 3.8).

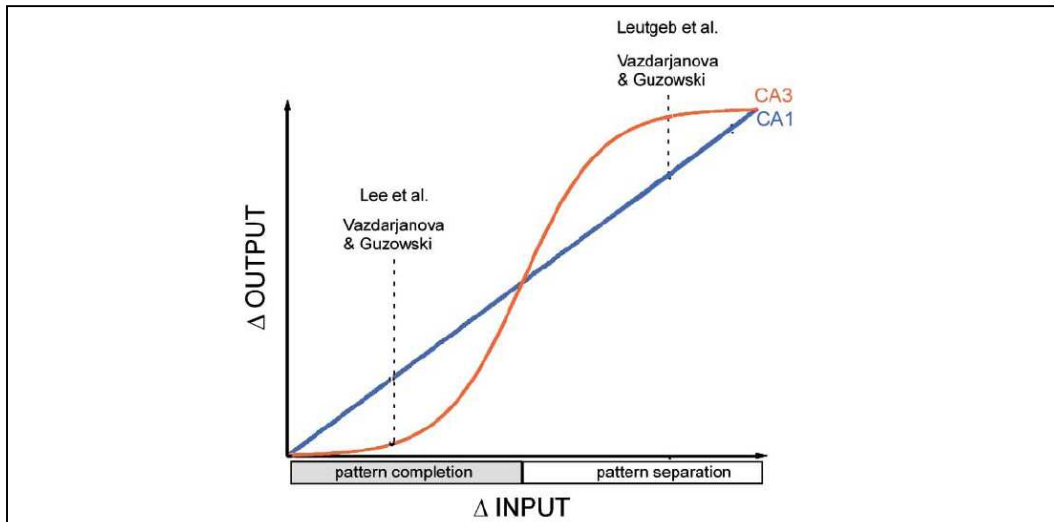


Figure 3.8. Transformation non linéaire dans CA3 des entrées sensorielles. La fonction sigmoïde représentant les entrées et les sorties reflète la compétition dynamique entre la *pattern completion* et la *pattern separation* au niveau du réseau autoassociatif CA3 (McClelland et Goddard, 1996). Les signaux de sortie sont peu sensibles à de petits changements au niveau des signaux d'entrée (*pattern completion* comme dans les études de Lee et al., 2004 et de Vazdarjanova et Guzowski, 2004), mais changent radicalement en réponse à de plus larges modifications (*pattern separation* comme dans les études de Leutgeb et al., 2004 et de Vazdarjanova et Guzowski, 2004). D'après Guzowski et al., 2004.

Les différences fonctionnelles entre CA1 et CA3 peuvent être expliquées par la présence de nombreuses connexions collatérales récurrentes associatives au niveau CA3, qui provoqueraient une inertie d'activation du réseau (Rolls et Kesner, 2006 ; Rolls, 2007). Le réseau CA1, principalement de type « feed-forward », serait plus directement dépendant des informations sensorielles en provenance du cortex entorhinal. Une interprétation possible est que CA1, par ses influx entorhinaux, détiendrait les informations de l'expérience de l'animal en cours. Cette représentation serait comparée à la représentation de l'expérience passée enregistrée dans CA3 (Hasselmo et al., 1995).

Même si CA1 est présenté ici comme répondant de manière linéaire aux changements de l'environnement, sous d'autres conditions, cette région peut aussi répondre de façon non linéaire à la manière de CA3 (Wills et al., 2005), reflétant sans doute une bascule des entrées dominantes entorhinales par les entrées CA3.

3.2.3. Gyrus denté

Les réponses non linéaires observées dans CA3, n'impliquent pas forcément que ces processus soient initiés dans CA3. Plusieurs études ont en effet montré que la *pattern separation* était présente en amont, au niveau du gyrus denté (Treves et Rolls, 1992 ; Rolls et al., 1998 ; Leutgeb et al., 2007 ; McHugh et al., 2007, chez le rat et Bakker et al., 2008, chez l'homme). McHugh et al. (2007) ont testé récemment l'effet de la délétion du récepteur NMDA spécifiquement dans les cellules granulaires du gyrus denté sur la capacité des souris à former des représentations distinctes d'événements similaires ou très proches. L'activité des cellules de lieu de CA3 est enregistrée pendant que les souris doivent explorer deux boîtes différentes dans des pièces identiques (paradigme supposé créer du *remapping fréquentiel* (Leutgeb et al., 2005b)). Chez les contrôles, les cellules de CA3 montrent un changement important dans la fréquence de décharge entre les deux boîtes, tandis que les souris KO ne le présentent pas. Les souris KO ne seraient donc pas capables de distinguer des environnements subtilement différents sans la plasticité au niveau du gyrus denté. Le gyrus denté est donc nécessaire pour que la *pattern separation* se déroule correctement dans CA3. Il serait capable d'amplifier les subtiles différences entre deux environnements avant que les représentations soient encodées dans CA3.

On a vu aussi que le gyrus denté permet (chapitre 6.8), grâce à la neurogénèse, la distinction de deux événements dans le temps (Aimone et al., 2006). La neurogénèse serait peut être le mécanisme commun à l'origine de la distinction entre deux événements dans le temps et de la distinction entre deux environnements. La séparation de deux environnements distincts peut en effet se réaliser sur la base du temps, car chaque environnement est forcément visité à des moments différents. Le gyrus denté, grâce aux propriétés électrophysiologiques spécifiques des cellules issues de la neurogénèse, pourrait bien être responsable de la formation de représentations distinctes pour des épisodes quasi similaires et jouerait donc un rôle crucial dans la mémoire épisodique.

3.2.4. Mémoire des représentations : importance d'un comparateur

Les processus de *pattern completion/separation* dépendent de la capacité du système à comparer une représentation mémorisée (consolidée et rappelée) avec les entrées sensorielles de l'environnement visité. L'hippocampe est connu pour être le substrat neuronal clef de la détection de la nouveauté, au niveau duquel les expériences passées, stockées dans CA3, sont comparées avec les expériences en cours arrivant dans CA1 (Gothard et al., 1996 ; Hasselmo et al., 1996 ; Kumaran

et Maguire, 2007 ; Vinogradova, 2001 ; Lee et al., 2004). Dans ce cadre théorique, c'est le cortex entorhinal qui fournirait les entrées de l'expérience en cours, à la fois indirectement via la voie du gyrus denté / CA3 et directement sur CA1, où les processus de comparaison devraient avoir lieu (Brun et al., 2002) (figure 3.9). Si la divergence entre la représentation présente et celle enregistrée est trop importante, cela devrait déclencher la réinitialisation des processus d'encodage d'une nouvelle information au niveau du gyrus denté/ CA3.

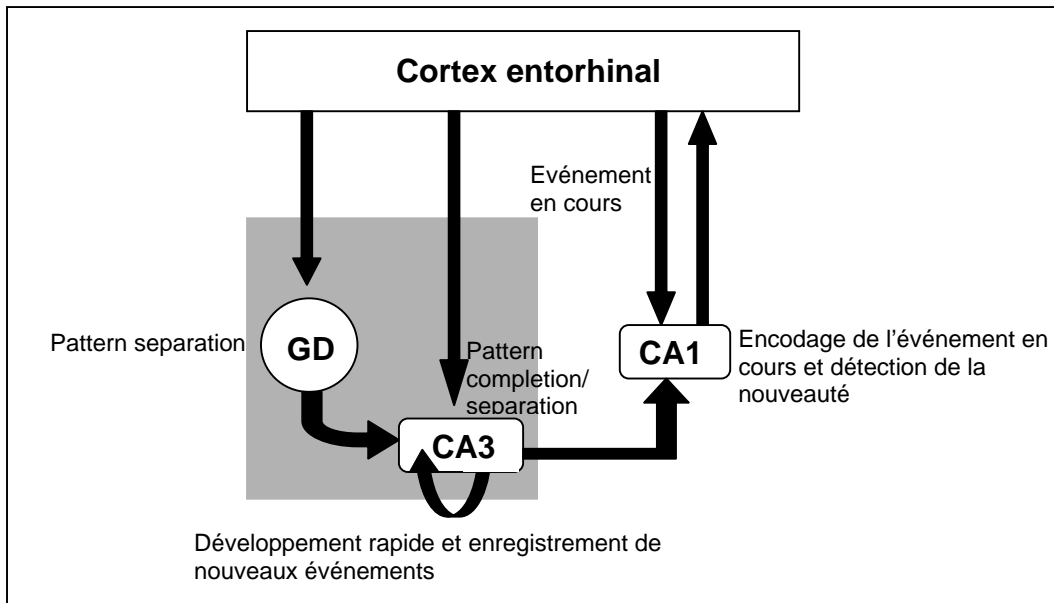


Figure 3.9. Un modèle de mise en mémoire au niveau des différentes régions de l'hippocampe. Le cortex entorhinal envoie des informations sensorielles concernant l'événement en cours au niveau du gyrus denté, de CA1 et de CA3. Le réseau gyrus denté/CA3 encode rapidement la nouvelle séquence d'informations spatio-temporelles, pour l'enregistrer à long terme dans CA3. Dans un environnement familier, CA1 encode la séquence d'informations liée à l'endroit ou à l'événement en cours, à partir des entrées entorhinales, et compare cette séquence avec celle enregistrée dans CA3. Une trop grande divergence entraînera le processus d'encodage de la nouvelle information dans le réseau gyrus denté/CA3. Pour simplifier, la voie de sortie de CA1 vers le cortex entorhinal via le subiculum n'a pas été représentée. Adapté d'après Lee et al., 2004.

Les représentations soutenues par l'activité des cellules de lieu peuvent se rétablir immédiatement quand on ré-expose l'animal au même environnement plusieurs semaines voire plusieurs mois après l'exposition initiale, ce qui suggère que les représentations sont stockées localement dans l'hippocampe, et notamment dans CA3, comme le décrivent certains modèles (Lee et al., 2002, 2004).

En revanche, l'idée du stockage des représentations au niveau de CA3 ne semble pas aller dans le sens des théories actuelles qui attribuent à l'hippocampe un rôle dans l'acquisition de l'information et dans le stockage à court terme et au néocortex un rôle dans le stockage à long terme, la transition de l'un à l'autre

s'effectuant au cours du processus graduel de consolidation (Jaffard et al., 1998 ; McClelland et al., 1996 ; Frankland et Bontempi, 2005 pour une revue). Une des prédictions résultant de cette organisation est que les représentations spatiales seraient acquises et temporairement stockées au niveau des assemblées de cellules de lieu puis transférées vers les zones corticales. Si l'on suppose que les représentations spatiales sont stockées au niveau du néocortex, il serait plausible d'y trouver des cellules dont l'activité est corrélée à la position de l'animal dans l'environnement. Cependant, de telles cellules n'ont pas encore été identifiées. Il y a la possibilité que l'organisation de l'information dans le cortex obéisse à des règles différentes. Par exemple, on peut imaginer que lors du traitement de l'information, les épisodes soient « décortiqués » en leurs composantes élémentaires qui sont alors distribuées sur plusieurs structures néocorticales (Damasio, 1989). Parallèlement, il y a les travaux sur la potentialisation à long terme (PLT) qui montrent qu'il existe dans le néocortex, des mécanismes d'ajustement synaptiques, NMDA-dépendants, caractérisés par des constantes de temps plus importantes que pour l'hippocampe (Trepel et Racine, 1998 ; Ivanco et Racine, 2000). Ces résultats étayent l'hypothèse que le néocortex serait le siège des processus de mémorisation reflétant la constitution progressive d'une mémoire à long terme (McClelland et Goddard, 1996). Notons que le transfert de l'information pourrait être facilité par des phénomènes de ré-activation des représentations spatiales au cours du sommeil (Wilson et McNaughton, 1994). Finalement, aucune réponse n'a encore été apportée à la question centrale du stockage des représentations spatiales, mais on peut néanmoins faire l'hypothèse que soit les représentations sont stockées à long terme au niveau de l'hippocampe, soit le dialogue entre l'hippocampe et les zones corticales qui contiendraient la représentation spatiale est très efficace et rapide. Les deux interprétations permettent d'expliquer pourquoi la représentation peut être rétablie aussi rapidement malgré le fait que l'animal n'a pas expérimenté l'environnement depuis des mois.

3.3. Cellules grille et remapping hippocampique

Les travaux de Fyhn et al. (2007) montrent un lien direct entre le remapping global des cellules de lieu hippocampiques et le ré-alignement des grilles des cellules du cortex entorhinal médian. Ces auteurs ont enregistré simultanément l'activité hippocampique au niveau de CA3, et l'activité des cellules de la couche II du CEM dans un protocole visant à dissocier rate remapping et global remapping (Leutgeb et al., 2005b). Les résultats montrent que le global remapping

hippocampique (induit par un changement de pièce, dans des boîtes identiques) est associé à un changement d'orientation globale de la grille, sans changement de l'espacement inter-champs, ni de la taille des champs. Pour les quelques neurones entorhinaux enregistrés sur plusieurs jours, les auteurs ont constaté que les modifications d'orientation étaient stables au cours du temps pour un couple d'environnements donné. En revanche, lorsque les cellules de lieu CA3 subissent un remapping fréquentiel (induit par des modifications de couleur des boîtes, situées dans une même pièce), les grilles des cellules entorhinales présentent le même alignement, c'est-à-dire qu'elles sont stables entre les deux boîtes. En résumé, l'étude de Fyhn et al. (2007) suggère que le type de remapping observé au niveau hippocampique peut être prédit en fonction de l'alignement des grilles des cellules entorhinales avec les bords du dispositif. Une des questions qui reste à déterminer est de savoir si le remapping est généré au niveau hippocampique ou bien au niveau du cortex entorhinal.

3.4. Conclusion

L'ensemble des travaux mentionnés dans ce chapitre suggère que le recodage spatial (ou *remapping*) est un phénomène qui permet de mieux comprendre les mécanismes par lesquels les représentations spatiales hippocampiques s'adaptent aux modifications environnementales. Dans mon travail expérimental, j'ai utilisé cette propriété de « remapping » pour évaluer la capacité du système des cellules de lieu à élaborer de nouvelles représentations spatiales en cas de modifications importantes de l'environnement familier. Le remapping est donc un moyen d'étudier la flexibilité du système face aux changements.

Nous supposons que le processus de *remapping* permet à l'animal de garder en mémoire les représentations de multiples environnements mais les caractéristiques fines de l'encodage et du maintien de ces représentations ne sont pas bien connues. Il est donc intéressant d'aborder les bases moléculaires qui sont à l'origine de la stabilité et de la flexibilité des représentations spatiales en réponse à des modifications de l'environnement et en relation avec les propriétés mnémoniques du système.

Chapitre 4

Les mécanismes moléculaires de la flexibilité de la représentation spatiale

La science de ces dernières décennies a été empoisonnée par un débat idéologique dont le masque scientifique prenait la forme du problème de l'inné ou de l'acquis [...] L'inné est déterminant à 100 %. Quant à l'acquis, il ne lui reste que 100 %. Cet illogisme apparent signifie que si on supprime l'un des deux, c'est l'ensemble qui meurt...

Boris Cyrulnik, éthologue et neuropsychiatre contemporain.

4.1. Cellules de lieu et plasticité synaptique

4.1.1. La potentialisation à long terme (PLT) à ses origines

Le neuroanatomiste Santiago Ramon y Cajal propose en 1894 une hypothèse révolutionnaire : l'apprentissage faciliterait l'expansion et la croissance de protubérances (nommées plus tard les synapses) qui connectent les neurones entre eux. Cette première formulation du concept de plasticité neuronale est, à l'époque, d'autant plus frappante que les études anatomiques du cerveau et de son développement révèlent la précision et la stabilité des assemblages neuronaux. Sans arguments expérimentaux directs, les positions théoriques s'affrontent, jusqu'en 1949, quand un psychologue canadien Donald Hebb énonce une hypothèse forte qui permet de concilier les deux points de vue :

« Lorsqu'un axone d'une cellule A [...] excite une cellule B et joue un rôle dans sa décharge de façon répétée ou persistante, certains processus de développement ou certaines modifications métaboliques surviennent dans une ou dans les deux cellules de telle façon que l'aptitude de A à exciter B est augmentée ».

Hebb propose donc que l'activité électrique que l'on observe dans des assemblées de neurones lors d'un apprentissage persiste pendant un certain temps, comme pour frayer un chemin, et que cela entraîne des modifications cellulaires ou biochimiques des neurones activés, de sorte que la force synaptique entre eux augmente.

En 1970, Eric Kandel et ses collaborateurs mettent en évidence des changements fonctionnels des synapses de l'aplysie, corrélativement à cet apprentissage (Castelluci et al., 1970). Ces résultats trouvent leur pendant chez les mammifères

quelques années plus tard lorsque Timothy Bliss et Terje Lomo (1973) démontrent sur le lapin, la capacité de plasticité des synapses de l'hippocampe. Cette plasticité est désormais connue sous le nom de potentialisation à long terme, ou PLT (Bliss et Lomo, 1973). Dans leur découverte initiale les auteurs montrent qu'une brève stimulation à haute fréquence appliquée artificiellement au niveau de la voie perforante reliant le cortex entorhinal au gyrus dentelé, induit une augmentation importante et durable de l'efficacité de la transmission synaptique : les neurones cibles de l'hippocampe acquièrent une plus grande sensibilité à toute stimulation ultérieure. Le plus remarquable dans cette forme de plasticité, induite en quelques dizaines de millisecondes, est sa persistance : les synapses restent modifiées, potentialisées pour des semaines, voire des mois.

4.1.2. La PLT, un modèle de plasticité impliqué dans les processus mnésiques

De très nombreux travaux suggèrent que la PLT pourrait refléter l'existence d'un mécanisme physiologique impliqué dans l'apprentissage. Même si la PLT est induite par une stimulation artificielle, plusieurs de ses caractéristiques en font un mécanisme de stockage approprié. Tout d'abord, elle se produit dans les trois principales voies dans lesquelles l'information circule dans l'hippocampe : la voie perforante, la voie des fibres moussues, et la voie collatérale de Schaffer. Ensuite, elle est rapidement déclenchée : une seule salve de stimuli électriques à haute fréquence peut doubler la force d'une connexion synaptique. Pour finir, une fois déclenchée, elle est stable pendant une ou plusieurs heures, et même pendant des jours suivant le nombre de répétitions de la stimulation.

Le phénomène de PLT a été ensuite mis en évidence *in vitro* dans d'autres régions de l'hippocampe (dans CA3 : Alger et Teyler, 1976 ; Yamamoto et Chujo ; 1978 ; dans CA1 : Schwartzkroin et Wester, 1975 ; Andersen, 1977) et dans plusieurs autres régions du cerveau (cortex entorhinal, subiculum, cortex visuel, l'amygdale, septum, cortex piriforme, le cortex préfrontal) (voir Bennett, 2000 pour une revue)¹⁴.

Le fait que la PLT ait les caractéristiques d'un processus mnésique idéal ne prouve pas pour autant qu'elle intervienne dans le stockage mnésique lors d'un apprentissage. Cependant, l'activité neuronale qui contribue à un souvenir dans des circonstances normales d'apprentissage est très difficile à étudier. Donc, la

¹⁴ La PLT a pu être établie aussi dans d'autres espèces que le rongeur, comme le cyprin doré, espèce de poisson (Lewis et Teyler, 1986 ; Yang et Faber, 1991), le ouaouaron, espèce d'amphibien (Koyana et al., 1985 ; Minota et al., 1991), le lézard (Larson et Lynch, 1985), les oiseaux (Scott et Bennett, 1993a, 1993b), et même sur le tissu hippocampique humain (Beck et al., 2000).

PLT est produite en laboratoire, dans des conditions contrôlées où il est plus facile de mettre en évidence les mécanismes moléculaires de la mémoire.

Bien que la PLT puisse être induite dans plusieurs synapses de l'hippocampe et dans de nombreuses régions du cortex, les mécanismes d'induction ne sont pas tous les mêmes. J'ai choisi de décrire brièvement les mécanismes de la PLT induite au niveau de la collatérale de Schaffer (enregistrement dans CA1), car il existe une meilleure corrélation entre la mémoire déclarative et la PLT dans cette voie. Pour comprendre le mécanisme de la PLT, il est d'abord nécessaire de comprendre comment elle est initiée, et une fois initiée, comment elle est maintenue.

Phase précoce

Grâce aux travaux de Watkins et Collingridge et de leur équipe (Bashir et al., 1993, 1993a ; pour revue Watkins et Collingridge, 1993), on sait que le glutamate, neurotransmetteur utilisé dans la voie collatérale de Schaffer, agit sur au moins deux types principaux de récepteurs post-synaptiques au glutamate : le récepteur AMPA (ou non NMDA) et le récepteur NMDA. Le canal du récepteur NMDA ne fonctionne pas dans les conditions basales, car il est obturé par un ion magnésium, qui ne peut être déplacé que lorsqu'un signal qui dépolarise significativement le potentiel de repos de la membrane post-synaptique est généré dans la cellule (Ascher et al., 1988 ; Ascher et Nowak, 1988 ; Mayer et Westbrook, 1984). Un signal aussi fort peut être produit artificiellement par la stimulation haute fréquence des cellules pré-synaptiques, et on suppose qu'une bouffée similaire d'activité pourrait se produire naturellement pendant une expérience d'apprentissage. La décharge du neurone pré-synaptique doit être répétée pour dépolariser suffisamment la membrane postsynaptique et entraîner l'expulsion du bouchon de magnésium de l'entrée du récepteur NMDA, permettant le calcium (un second messenger) d'entrer massivement dans la cellule postsynaptique (Asztely et al., 1992). Cette quantité suffisante de calcium initie alors l'ensemble des étapes qui conduisent à l'amélioration persistante de la transmission synaptique. L'entrée de calcium par le canal NMDA est le signal critique de l'induction de la PLT, comme le suggère une étude qui montre que la PLT ne peut pas être induite si on charge les neurones postsynaptique d'EGTA, un chélateur de calcium (Lynch et al., 1983). L'augmentation de la concentration intracellulaire en calcium va activer les nombreuses enzymes sensibles au calcium, comme les kinases (Malinow et al., 1989 ; pour revue, Soderling et Derkach, 2000) ou les phosphatases (Halpain et Greengard, 1990 ; Blitzler et al., 1998). Les protéines kinases comme la protéine kinase II calcium-calmoduline dépendante (CaM

kinase II), les protéines kinase C et A (PKC et PKA) ainsi que les MAPK (Mitogen-activated protein kinase) jouent un rôle majeur dans les mécanismes de transduction intracellulaire du signal, car elles ont toutes une fonction analogue : elles phosphorylent en ajoutant des groupes phosphate aux protéines cibles, et de cette façon en activent certaines et en inhibent d'autres. Par exemple, la CaM kinase II activée phosphoryle le récepteur AMPA au niveau post-synaptique, ce qui améliore temporairement la capacité du récepteur à répondre au glutamate libéré par le neurone pré-synaptique (Barria et al., 1997). Ensuite, en réponse aux kinases et au flux entrant de calcium, la cellule postsynaptique peut envoyer un signal (le monoxyde d'azote) vers les terminaisons pré-synaptiques afin d'augmenter la probabilité qu'un potentiel d'action déclenche la libération de neurotransmetteur (Schuman et Madison, 1994 pour une revue).

Une fois initiée, comment la PLT est-elle maintenue de façon à permettre au stockage mnésique de perdurer ?

Phase tardive

Une étape importante de la compréhension des mécanismes de la PLT a été la découverte que la synthèse de nouvelles protéines est nécessaire au maintien de la PLT. Frey, Huang et Kandel (1993), en examinant la PLT dans la voie collatérale de Schaffer sur des coupes d'hippocampe de rat, ont trouvé des phases temporelles distinctes. Une première phase commence immédiatement après la stimulation et dure de une à trois heures. Cette phase est induite par une seule salve de stimuli haute fréquence et ne requiert pas de synthèse protéique. Au contraire, trois salves (ou plus) entraînent une PLT tardive qui persiste au moins 28 heures, et cette phase tardive semble nécessiter l'activation de gènes car elle est bloquée par des inhibiteurs de la synthèse protéique, par des inhibiteurs de la synthèse de l'ARN et par des inhibiteurs de la PKA. Inversement, cette phase tardive peut être activée par l'AMPc, un second messenger (comme le calcium), qui envoie un signal au noyau pour commencer à activer les gènes. D'autres travaux ont montré qu'avec des inhibiteurs de la synthèse protéique, les phases tardives de la PLT ne sont pas maintenues et la réponse revient à sa ligne de base 3 heures environ après l'induction de la PLT (Krug et al., 1984 ; Stanton et Sarvey, 1984) confirmant que la synthèse de nouvelles protéines peut expliquer la consolidation de la PLT (Nguyen et al., 1994) (figure 4.1).

Que l'on essaie d'induire la phase tardive de la PLT par une stimulation téτανique ou en appliquant de l'AMPc, cette induction est entravée quand la transcription des gènes est bloquée, soit immédiatement après la stimulation, soit pendant

l'application d'AMPc, mais pas plus tard. Ainsi, la phase tardive de la PLT nécessite la transcription de gènes particuliers pendant une période critique suivant immédiatement la stimulation. Les premiers gènes qui vont permettre l'activation de la machinerie génétique suite à l'induction de la PLT sont les gènes immédiats précoces (IEG). Lanahan et Worley (1998) ont estimé qu'au moins 30 à 40 gènes immédiats précoces sont sensibles à l'activation neuronale. Le produit des gènes immédiats précoces, dont l'induction est rapide et transitoire, constituent une classe importante de protéines régulant l'expression des gènes de la cellule, ce qui leur confère le rôle d'intermédiaires entre les signaux transitoires des récepteurs membranaires et les changements à long terme impliquant la machinerie génétique. Pour résumer, un scénario possible du passage des phases précoces de la PLT aux phases tardives serait que la répétition de stimulations tétaniques favoriserait un flux entrant massif de calcium, qui active de nombreuses kinases mais aussi l'adénylate cyclase. L'AMPc synthétisée par l'adénylate cyclase active une protéine kinase A, qui est capable de rentrer dans le noyau pour phosphoryler et activer CREB, un facteur de transcription constitutivement présent dans le noyau. Une fois phosphorylé, CREB activerait à son tour la transcription de gènes immédiats précoces comme zif268, BDNF ou c-fos en se fixant sur leur promoteur CRE. La protéine zif268, fait partie des facteurs de transcription *régulateurs* qui ont pour rôle de réguler la transcription d'autres gènes, eux-même responsables des modifications à long terme au niveau de la synapse. CREB peut aussi activer directement la transcription de gènes cibles *effecteurs* qui agiront sur la croissance neuronale ou les changements structuraux (figure 4.2).

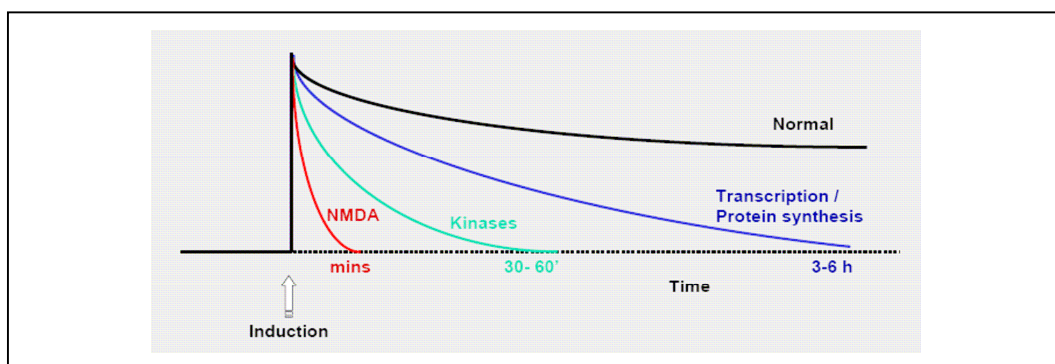


Figure 4.1. Déclat temporel de la PLT après une stimulation tétranique (courbe noire). Si on bloque les récepteurs NMDA (rouge), la PLT revient à son niveau de base en quelques minutes. Si on bloque les kinases (vert), la PLT revient à son niveau basal en moins d'une heure. Si on bloque la synthèse protéique (bleu), la potentialisation persiste quelques heures mais n'est pas maintenue à long terme.

Les modifications structurelles post-synaptiques observées, dues à la synthèse protéique, correspondent à une modification de la forme et du nombre d'épines dendritiques et des synapses (Maletic-Savatic et al., 1999), la conversion de synapses inactives en synapses actives (Isaac et al., 1995), la création de nouveaux contacts synaptiques par la formation de synapses perforées (Geinisman et al., 1991 ; 1992), ou encore une augmentation du nombre de récepteurs AMPA au niveau post-synaptique (Matsuo et al., 2008). Les changements durables donnent donc lieu à une réorganisation fonctionnelle et structurelle des synapses (Davis et Squire, 1984).

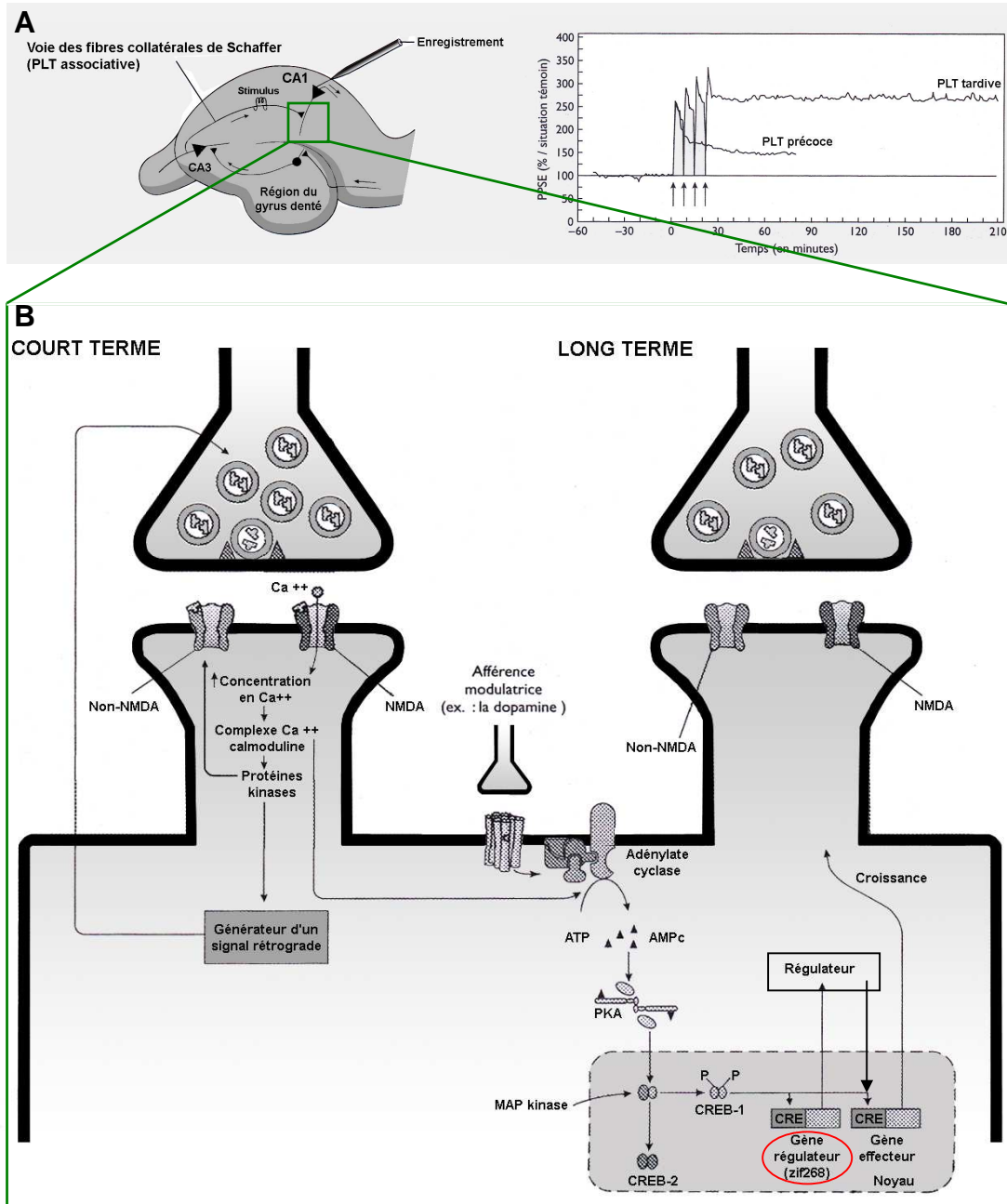


Figure 4.2. Modèle des phases précoces et tardives de la PLT. **A.** Une salve de stimuli délivrée pendant une seconde à 100 Hz au niveau de la collatérale de Schaffer, entraîne une PLT précoce, et quatre salves délivrées à 10 minutes d'intervalle entraînent une phase tardive de PLT. La PLT précoce dure deux heures et la PLT tardive, plus de 24 heures. **B.** Une salve isolée de stimulations provoque l'initiation de la phase précoce de la PLT en activant les récepteurs NMDA et en favorisant l'entrée de Ca^{++} dans la cellule postsynaptique. Le Ca^{++} se combine avec la calmoduline pour activer une série de seconds messagers (les protéines kinases) qui pourraient médier au moins deux fonctions. Premièrement, les kinases phosphorylent les canaux récepteurs non NMDA et augmentent ainsi la sensibilité de ces récepteurs au glutamate. De plus, les kinases pourraient activer un ensemble d'enzymes qui génèrent des signaux rétrogrades qui, par feed-back sur les terminaisons présynaptiques, augmentent la libération de neurotransmetteur. En cas de répétition des salves, le flux entrant de Ca^{++} implique également l'adénylate cyclase. Cet effecteur enzymatique active la PKA, qui est alors transportée vers le noyau où elle pourrait phosphoryler le CREB. CREB, à son tour, active les cibles qui sont à la fois régulatrices (*zif268* par exemple) et effectrices de la croissance neuronale et sont sensées provoquer des changements structuraux. D'après le livre de Squire et Kandel « La mémoire : de l'esprit aux molécules ».

4.1.3. Y-a-t-il un lien entre la PLT et la mémoire spatiale?

PLT et mémoire spatiale

De très nombreux travaux suggèrent que la PLT est une forme de plasticité nécessaire à l'apprentissage et au maintien de la trace mnésique en général.

Dans cette partie, je me concentrerai en particulier sur les résultats montrant que des perturbations de la PLT ont des répercussions sur les capacités d'apprentissage spatial. Certaines études ont testé l'implication des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) - dont on connaît l'importance dans l'induction de la PLT - dans l'apprentissage. L'injection d'antagonistes NMDA spécifiques bloque à la fois l'induction de la PLT (sans abolir la conduction synaptique : Collingridge et al., 1983 ; Zalutsky et Nicoll, 1990 ; Hanse et Gustafsson, 1992) et provoque un déficit dans une tâche de navigation dans la piscine de Morris (Morris et al., 1986 ; Bannerman et al., 1995 ; Saucier et Cain, 1995). Des données récentes se basant sur l'utilisation de souris knock-out pour des sous-unités des récepteurs NMDA, ont permis de montrer le rôle de ces récepteurs dans l'apprentissage. Par exemple, des souris K.O. chez lesquelles la sous-unité NR1 du récepteur NMDA est spécifiquement absente de la région CA1 présentent des déficits de PLT dans CA1 et des déficits d'apprentissage spécifiquement spatial (Tsien et al., 1996 ; Wilson et Tonegawa, 1997). Chez des souris mutantes sur-exprimant la sous-unité NR2 des récepteurs NMDA, on observe une facilitation de la PLT ainsi qu'un meilleur apprentissage dans diverses tâches, incluant la tâche de navigation spatiale dans la piscine de Morris (Tang et al., 1999).

Une autre approche se base sur l'hypothèse que la saturation des synapses préalablement à un apprentissage devrait le perturber. Le fait d'empêcher l'induction de la PLT, en saturant par stimulation haute fréquence répétée de la voie perforante menant au gyrus dentelé, provoque effectivement un déficit dans l'acquisition de la tâche de navigation dans la piscine de Morris (McNaughton et al., 1986 ; Barnes et al., 1996).

Il est intéressant aussi d'aborder le rôle des kinases dans l'apprentissage spatial, puisqu'elles sont elles même activées par l'induction de la PLT. Par exemple, l'injection d'un inhibiteur de la CaMKII induit des déficits mnésiques dans différents types d'apprentissage, et aussi dans l'apprentissage spatial (Tan et Liang, 1996). L'injection d'inhibiteur de la protéine kinase C dans l'hippocampe conduit à des déficits de mémoire spatiale à long terme (Pastalkova et al., 2006). Différents types de souris mutantes pour la CaMKII ont également été développés et ont permis de mettre en évidence des déficits dans des apprentissages spatiaux (piscine de Morris, labyrinthe en croix et en Y) (Silva et al., 1992 ; Giese et al.,

1998). Par ailleurs, l'action des kinases dans les neurones est contrebalancée par l'action des phosphatases. Des études ont donc tenté de moduler négativement les phosphatases pour en analyser les conséquences sur la PLT et sur l'apprentissage. Par exemple, l'utilisation d'inhibiteurs des protéines phosphatases 1 (PP1) bloque l'induction de la dépression à long terme (DLT) (Mulkey et al., 1993) démontrant ainsi l'importance des phosphatases dans la plasticité synaptique. Des études plus récentes ont montré que l'inhibition génétique de la protéine phosphatase 1 facilite l'apprentissage spatial (Genoux et al., 2002), qualifiée donc de façon générique comme étant « la molécule de l'oubli ».

Il est important de noter que malgré une cohorte d'arguments en faveur du lien entre la plasticité synaptique et la mémoire spatiale, il existe tout de même quelques travaux montrant une dissociation entre la PLT et l'apprentissage spatial (Abeliovich et al., 1993 ; Huang et al., 1995 ; Nosten-Bertrand et al., 1996 ; Richter-Levin et al., 1998 ; Migaud et al., 1998 ; Zamanillo et al., 1999). Migaud et collaborateurs (1998) ont par exemple montré que malgré l'augmentation de la PLT, les animaux ont des performances détériorées dans une tâche de navigation spatiale dans la piscine de Morris. Zamanillo et al. (1999) ont montré que même si l'induction de la PLT est affectée chez des souris K.O., ils ne trouvent pas de déficit de l'apprentissage spatial.

Il semble que l'approche de départ de Tim Bliss et Terje Lomo (1973) - qui consistait à appliquer artificiellement une stimulation téτανique sur une voie hippocampique et à en observer les conséquences au niveau de la transmission synaptique - ait été trop directe en déduisant une analogie simple entre PLT et mémoire. En effet, les protocoles d'induction de la PLT se basent sur des stimulations artificielles par définition et non physiologiques. Cette forme de plasticité ne peut donc pas être comparée à une plasticité naturelle. Les approches plus récentes, basées sur des techniques moléculaires et génétiques plus fines, permettent d'analyser les modifications observées après l'induction de la PLT et de les comparer avec les modifications survenant suite à un apprentissage.

Même si une grande partie des expérimentations démontre une corrélation assez nette entre la PLT et la mémoire spatiale, il serait imprudent de tracer un lien direct et définitif entre PLT et mémoire spatiale et mémoire en général. Jusqu'à maintenant, une seule étude (Whitlock et al., 2006) a réussi à montrer qu'une stimulation naturelle induite par un apprentissage produisait une PLT similaire à celle induite par les stimulations haute fréquence dans CA1. Ce travail est le premier à établir l'existence d'un lien entre l'apprentissage et la PLT dans CA1.

La PLT représente néanmoins, pour le moment, le meilleur modèle de plasticité permettant d'expliquer l'apprentissage et le maintien de la mémoire.

A l'instar de la PLT, la formation des représentations par les cellules de lieu comporte une phase précoce et une phase tardive.

PLT et cellules de lieu

Les champs de lieu sont formés en quelques minutes (Hill, 1978; Bostock, 1991; Wilson et McNaughton, 1993) et une fois formés, la carte à laquelle ils contribuent peut rester stable pendant des semaines (Muller, 1987; Thompson et Best, 1989; Bostock, 1991).

Ces faits posent plusieurs questions intéressantes : la PLT est-elle nécessaire pour l'activation des cellules de lieu ? La PLT est-elle nécessaire pour la modulation précise de leurs propriétés et en particulier pour la stabilité du champ de réponse au cours du temps ? L'instabilité de la carte se traduit-elle dans le comportement sous la forme d'une mémoire spatiale instable ?

En dépit de l'importance que semble revêtir la PLT dans les processus d'apprentissage et les cellules de lieu dans l'élaboration des représentations spatiales, ce n'est que récemment que des travaux se sont attachés à étudier le lien entre les deux phénomènes. Deux stratégies expérimentales ont été utilisées : d'une part une stratégie classique consistant à tester les effets d'injections d'antagonistes du récepteur NMDA sur l'activité des cellules de lieu et d'autre part, une stratégie reposant sur la création de souris K.O. pour le récepteur NMDA, c'est-à-dire ne possédant plus le gène codant pour ce récepteur. Kentros et ses collaborateurs ont montré que l'injection de CPP [(±)-3-(2-carboxypiperazin-4-yl) propyl-1-phosphonic acid], un antagoniste du récepteur NMDA, n'altère pas une représentation déjà formée (Kentros et al., 1998). Par ailleurs, le blocage de ces récepteurs n'empêche pas la formation d'une nouvelle représentation (*remapping*) quand l'animal est placé dans un environnement nouveau. En revanche, la stabilité à long terme de cette nouvelle représentation est affectée. Alors que chez l'animal contrôle, chaque ré-exposition ultérieure (les jours suivants) à l'environnement "nouveau" induit le rétablissement de la même représentation, chez les rats ayant reçus l'injection de CPP, c'est une nouvelle représentation qui apparaît. Ces résultats indiquent que la plasticité NMDA-dépendante est très spécifique et ne concerne que le maintien à long terme d'une représentation. De plus, cela suggère que d'autres processus impliquant également une plasticité synaptique (élaboration d'une représentation, remapping, stabilité à court terme) ne dépendent pas des récepteurs NMDA. L'enregistrement de

cellules de lieu chez des souris mutantes, « knock-out » pour les récepteurs NMDA présents dans le champ CA1 montre que leur activation est toujours corrélée à la position de l'animal (McHugh et al., 1996 ; Tsien et al., 1996 ; Yan et al., 2002). Cependant, les champs de réponse apparaissent beaucoup plus étendus que chez les animaux contrôles, ce qui suggère que l'absence de récepteurs NMDA altère la spécificité spatiale de la représentation. Les champs de réponse présentent aussi une instabilité lorsque l'animal est placé de façon répétée dans le même environnement. Ces déficits observés sont cohérents avec les faibles performances spatiales observées dans le test de la piscine de Morris (Gerlai et al., 1998). Notons que ces souris mutantes présentent aussi des déficits dans des tâches non spatiales (Rampon et al., 2000 ; Gerlai et al., 1998). Un petit nombre d'études s'est intéressée à d'autres composantes de la cascade d'événements conduisant au phénomène de potentialisation à long terme, en particulier les protéines kinases (CaMKII et PKA). Les caractéristiques de décharge des cellules de lieu enregistrées chez des souris transgéniques n'exprimant plus normalement la protéine, sont altérées de manière plus ou moins importante. En particulier, la stabilité des champs de réponse dans des conditions environnementales constantes est affectée (Rotenberg et al., 1996 ; Cho et al., 1998 ; Rotenberg et al., 2000 ; Cacucci et al., 2007). Ici encore, ces résultats sont cohérents avec la diminution des capacités d'apprentissage observée chez cette souche de souris.

Bien qu'encore trop peu nombreux, ces résultats suggèrent pourtant qu'il existe un lien entre la PLT et l'élaboration des représentations spatiales au niveau des cellules de lieu. Un point est à retenir : l'altération de la PLT par des méthodes pharmacologiques ou génétiques ne perturbe généralement pas l'acquisition des représentations mais plutôt la stabilité de représentations déjà élaborées. Cela suggère que le phénomène de PLT NMDA-dépendante joue un rôle à un niveau très spécifique de la dynamique des représentations spatiales, peut-être dans les processus de stockage. En revanche, l'élaboration des représentations, c'est-à-dire l'acquisition de novo d'une mémoire spatiale, reposerait sur des processus NMDA-indépendants.

L'ensemble de ces expériences constitue une première étape dans la chaîne qui connecte « les molécules à l'esprit »¹⁵, en montrant comment l'altération de la PLT modifie la représentation interne qui guide le comportement de l'animal. Toutes ces études suggèrent que la plasticité synaptique induite par la PLT pourrait représenter un bon modèle moléculaire permettant d'expliquer la stabilité dans le temps des représentations spatiales de l'hippocampe. Ce type d'étude ne s'est par contre jamais encore intéressé à l'effet d'une délétion au niveau d'un

¹⁵ expression adaptée du livre « La mémoire : de l'esprit aux molécules » de Squire et Kandel.

gène immédiat précoce (zif268), un des acteurs de la cascade moléculaire activée par la PLT.

4.2. Zif268 et mémoire

Les hypothèses actuelles suggèrent que des régulations géniques et la synthèse de protéines sont nécessaires à la formation de traces stables en mémoire à long terme. On sait que l'apprentissage entraîne l'activation de plusieurs gènes impliqués dans la plasticité synaptique et que l'inhibition des synthèses protéiques perturbe la mémoire à long terme. Dans les neurones, cette réponse transcriptionnelle complexe est amorcée lorsque des facteurs de transcription, activés par les kinases, se fixent sur des sites spécifiques de promoteurs de gènes dans le noyau et modifient leur expression. Une étape clé est l'activation rapide et transitoire de "gènes précoces" (IEG pour *Immediate Early Gene*), qui agissent comme des commutateurs moléculaires contrôlant l'expression de gènes cibles. L'équipe de Serge Laroche s'est intéressée à un de ces IEG (comme c-fos , jun, arc1), en utilisant une souche de souris génétiquement modifiée, chez laquelle le promoteur du gène zif268 est muté de sorte que le gène n'est plus exprimé dans les neurones. Dans ce chapitre, je décris principalement le travail de cette équipe qui a étudié les conséquences de l'inactivation du gène précoce zif268 sur les fonctions neuronales et cognitives, ceci afin de mieux comprendre l'enjeu de mon travail de thèse qui a consisté à enregistrer l'activité des cellules de lieu de ces souris KO.

4.2.1. Qui est zif268 ?

Le gène zif268, aussi connu sous le nom *egr-1*, NGFI-A, *krox-24*, ou ZENK (Zif268, *Egr-1*, NGFI-A, *Krox-24*) a été originellement identifié vers la fin des années 80 comme un facteur de croissance neuronal (Milbrandt, 1987). Zif268 est un gène inductible (contrairement à CREB qui est constitutif) codant pour un facteur de transcription. Il appartient à la famille de gènes « Egr » (les trois autres étant *Egr-2*, 3 et 4), dont la caractéristique est de coder pour des facteurs de transcription avec trois doigts de zinc se liant à l'ADN (figure 4.3).

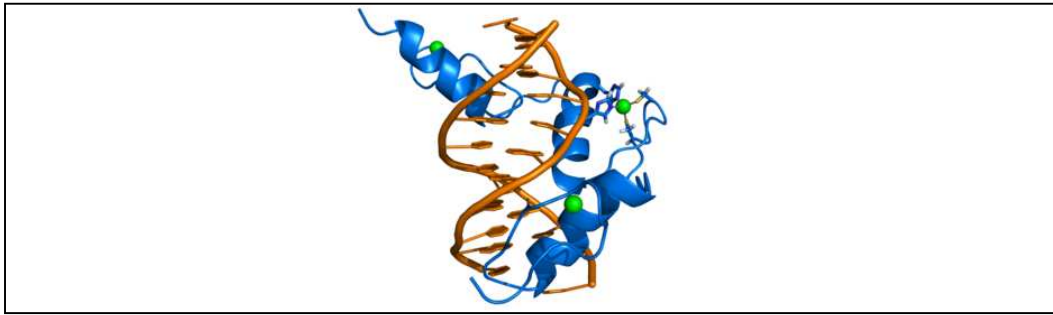


Figure 4.3. Représentation de l'interaction de zif268 avec l'ADN. La liaison de zif268 à l'ADN se fait par l'intermédiaire de trois doigts de zinc, tout comme les autres facteurs de transcription de la famille *Egr*.

Tous les membres de la famille *Egr* reconnaissent une même séquence sur l'ADN, le *EGR response element*, qui permet de réguler l'expression de gènes tardifs (Christy et Nathans, 1989 ; Swirnoff et Milbrandt, 1995 ; O'Donovan et al., 1999). Dans le cerveau, l'ANRm et la protéine sont exprimés dans de nombreuses structures, c'est à dire dans le néocortex, le cortex entorhinal, l'amygdale, le striatum, le cervelet et bien sûr dans l'hippocampe (Christy et Nathans, 1989 ; Mack et al., 1990 ; Worley et al., 1991). Dans l'hippocampe, son expression augmente progressivement lors de la deuxième semaine après la naissance et reste élevée dans les régions CA1 (Hughes et al. 1992 ; Desjardins et al., 1997), et CA3 (sensiblement moins élevée dans CA3 que dans CA1 (Cullinan et al., 1995)). Néanmoins, l'expression constitutive n'est que transitoire au niveau du gyrus denté car elle est stoppée 3 semaines après la naissance (Watson et Milbrandt, 1990 ; Herms et al., 1994). La découverte de l'implication de zif268 dans la plasticité neuronale remonte à des travaux dans les années 90 qui ont montré que l'induction de la PLT dans le gyrus denté est associée à une transcription importante et rapide de zif268 dans les cellules granulaires activées (Cole et al., 1989 ; Wisden et al., 1990). La transcription du gène à l'ARNm est rapide et transitoire car elle a lieu entre 10 minutes et 2 heures suivant l'induction de la PLT et dépend de l'activation des récepteurs NMDA. La protéine zif268 est synthétisée environ 2 heures après l'induction, mais n'est déjà plus présente dans les cellules 8 heures après l'induction.

Parmi les gènes appartenant aux familles d'IEG (*Fos*, *Jun*, ou *Egr*) régulés après la PLT, zif268 de la famille des *Egr* a particulièrement attiré l'attention car sa transcription est associée à l'expression de protéines (phases tardives de la PLT), et sa transcription semble plus corrélée avec la maintenance de la PLT qu'avec son induction (Abraham et al., 1991, 1993 ; Richardson et al., 1992 ; Worley et al., 1993 ; Dragunow, 1996). L'induction de zif268 après un apprentissage étant rapide et transitoire (figure 4.4), cela suggère que ce gène a un rôle dans la

transition entre la mémoire à court terme et la mémoire à long terme : il agirait comme un commutateur.

La transcription de *zif268* serait déclenchée par la fixation d'autres facteurs de transcription, CREB et Elk-1 se fixant sur les domaines *CRE* et *SRE response element* du promoteur de *zif268*. CREB et Elk-1 sont eux mêmes activés par les MAPK/ ERK (kinase) (Davis et al., 2000). Dans des « conditions naturelles », de nombreuses études ont fourni des preuves que l'expression de *zif268* était associée à l'exposition de l'animal à de nouveaux environnements ou à un contexte d'apprentissage en général (Nikolaev et al., 1992 ; Grimm et Tischmeyer, 1997 ; Okuno et Miyashita, 1996 ; Tokuyama et al., 2002 ; Mello et al., 1992 ; Jarvis et al., 1995 ; Bolhuis et al., 2000 ; Hall et al., 2000, 2001 ; Malkani et Rosen, 2000 ; Frankland et al., 2004), et notamment lors d'un apprentissage spatial (Guzowski et al., 2001). Même si ces études montrent une corrélation entre *zif268* et les processus d'apprentissage et de mémoire, elles ne permettent pas de déterminer si *zif268* est nécessaire pour les fonctions cognitives et neuronales. De telles questions ont pu être abordées grâce aux méthodes d'inactivation de l'expression de *zif268* in vivo, en créant une souche de souris « knock-out » pour ce gène.

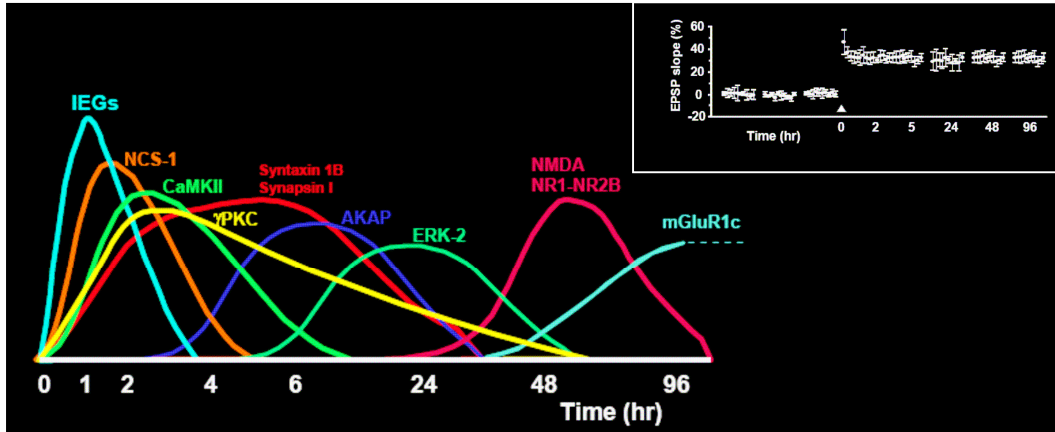


Figure 4.4. Profil d'expression des gènes consécutifs à la PLT.

4.2.2. Dysfonctionnement neuronal résultant de l'inactivation du gène *zif268*

Les premiers arguments en faveur d'un rôle de *zif268* dans l'expression de la PLT tardive et à la mémoire à long terme viennent d'un travail collaboratif entre l'équipe de Serge Laroche et de Tim Bliss dans lequel ils ont examiné la PLT dans le gyrus denté et les capacités de mémorisation de souris mutantes incapables d'exprimer le gène *zif268* dès la naissance (K.O. pour le gène *zif268*) (Jones et al., 2001).

Les études électrophysiologiques dans le gyrus denté chez la souris anesthésiée ont montré que l'inactivation de *zif268* n'affecte pas la transmission synaptique basale, ni les phénomènes de facilitation et d'inhibition à court terme. La PLT induite dans le gyrus denté, par des stimulations hautes fréquence dans la voie perforante, est normale pendant la première heure qui suit la stimulation chez les *zif268*^{-/-} homozygotes. Quand elle est induite chez des souris *zif268*^{-/-} libres de leurs mouvements, la PLT est normale dans le gyrus denté pendant au moins une heure après la stimulation, mais 24 et 48 heures après l'induction, elle n'est pas maintenue, contrairement aux souris contrôle (figure 4.5). Chez les souris hétérozygotes (*zif268*^{+/-}), qui expriment la moitié de protéine *zif268*, la PLT revient également à un niveau basal 24 heures après l'induction, ce qui suggère que la moitié du gène *zif268* ne suffit pas pour la maintenance à long terme de la PLT dans le gyrus denté (figure 4.5).

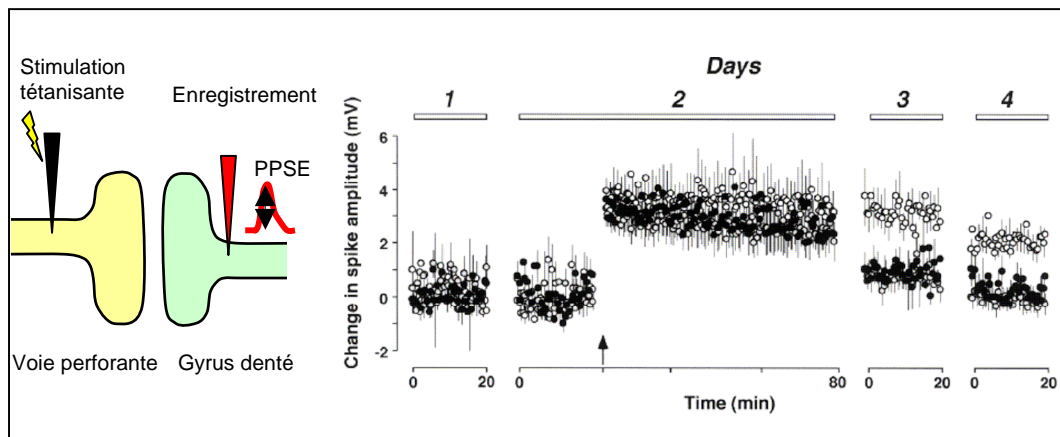


Figure 4.5. Evolution de la PLT dans le gyrus denté chez l'animal éveillé. Les réponses basales sont enregistrées pendant deux jours (20 minutes par jour). Une stimulation tétanisante est délivrée le deuxième jour (au niveau de la flèche) et les réponses sont enregistrées pendant l'heure qui suit et à 24 heures et à 48 heures, pendant 20 minutes après la stimulation. Les souris contrôle *zif268*^{+/+} (ronds blancs), hétérozygotes *zif268*^{+/-} (ronds gris), et homozygotes *zif268*^{-/-} (ronds noirs) montrent toutes une potentialisation de leur réponse pendant l'heure suivant la stimulation tétanisante, mais seules les *zif268*^{+/+} maintiennent la potentialisation sur 48 heures. Adapté d'après Jones et al., 2001.

Cette étude a démontré l'implication du gène *zif268* dans la stabilisation de la phase tardive de la PLT dans le gyrus denté. Cependant, encore trop peu de travaux ont examiné l'effet de l'inactivation de *zif268* sur la PLT dans d'autres régions du cerveau. En particulier, on ne sait toujours pas si *zif268* est nécessaire à l'expression de la PLT dans CA1 et CA3 par exemple, ou encore s'il existe une spécificité régionale (et/ou cellulaire) pour le rôle de *zif268* dans la plasticité synaptique. Il existe néanmoins un travail de Wei et al. (2000), qui a étudié la PLT dans CA1 sur des tranches d'hippocampe in vitro. Leurs données suggèrent que la PLT (suivie pendant 45 minutes) n'est pas affectée chez les mutantes, mais ils

reportent que la PLT peut être bloquée pour des stimulations téaniques beaucoup plus intenses. Cependant, cette dernière observation doit être prise avec précaution, à cause de l'absence totale de potentialisation à court terme dans cette condition, alors qu'elle est observée pour des stimulations plus faibles.

4.2.3. Zif268 et la consolidation des souvenirs

Jones et al. (2001), en plus d'examiner la PLT chez les souris mutantes, ont aussi évalué les performances d'apprentissage dans une grande variété de tâches comportementales spatiales et non spatiales afin de déterminer l'importance du gène pour la formation de la mémoire.

Ils ont d'abord évalué la mémoire spatiale à court terme, lors d'une tâche d'alternance spontanée dans un labyrinthe en T qui dépendrait de l'intégrité de l'hippocampe (Gerlai et al., 1998). Les performances des souris mutantes ne sont pas altérées pour ce type de tâche suggérant qu'elles ne présentent pas de problème de mémoire à court terme. Par contre, l'apprentissage est mauvais lorsque les souris sont soumises à une tâche de mémoire de référence en piscine de Morris avec un protocole d'entraînement massé. Le déficit de mémoire spatiale à long terme est confirmé par les mauvaises performances lors du test sans plateforme effectué 48 heures après la fin de l'entraînement. Ils ont ensuite examiné les performances de ces souris mutantes dans des apprentissages non spatiaux dans lesquels l'apprentissage se fait en un seul essai. Ainsi, un déficit à long terme est observé (24 heures) dans une tâche d'aversion gustative conditionnée, mais aussi dans une tâche de transmission sociale de préférence alimentaire¹⁶, alors qu'aucun déficit de mémoire à court terme n'a été trouvé. Ils ont enfin évalué la mémoire de reconnaissance d'objets, à partir d'une tâche basée sur la préférence spontanée pour la nouveauté et sur la capacité de l'animal à se souvenir des objets déjà rencontrés (Ennaceur et Delacour, 1988 ; Clark et al., 2000). Dans une session standard, l'animal est placé dans une arène dans laquelle il est exposé brièvement à deux objets différents (on a vérifié qu'il ne présente pas de préférence spontanée ni pour l'un ni pour l'autre). Après des délais variables (court terme ou long terme), un objet est remplacé par un nouvel objet. Si la mémoire des objets de la session initiale est altérée, l'animal passera autant de temps à explorer les deux objets, au lieu d'aller préférentiellement vers l'objet nouveau. Encore une fois, même si la mémoire de reconnaissance à court terme n'est pas altérée dans cette tâche, les souris mutantes ne sont pas capables de se souvenir des objets qu'elles

¹⁶ Tâche de discrimination olfactive qui exploite la propension innée des souris à préférer une nourriture nouvelle - par rapport à une autre jamais rencontrée non plus - si elle a été auparavant sentie au niveau de la bouche d'une souris démonstratrice.

ont explorés 24 heures auparavant, suggérant un problème de mémoire de reconnaissance à long terme (figure 4.6).

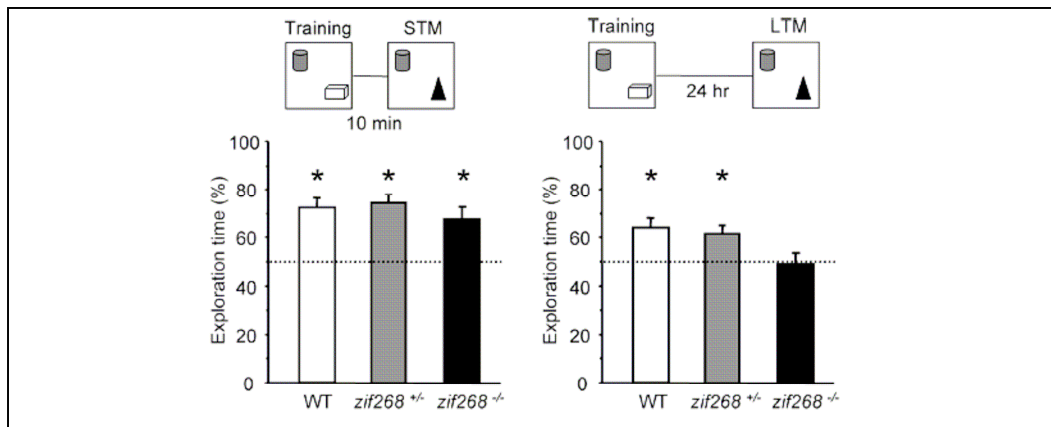


Figure 4.6. La mémoire de reconnaissance d'objets à long terme est affectée chez les *zif268*^{-/-}. Les souris contrôle (WT en blanc), les hétérozygotes (*zif268*^{+/-} en gris) et les homozygotes (*zif268*^{-/-} en noir) sont exposées à deux objets, et leur mémoire est testée soit 10 minutes (STM : *short term memory*), soit 24 heures (LTM : *Long term memory*) après, en remplaçant un objet par un autre. Les histogrammes représentent le temps passé à explorer le nouvel objet. Seules les souris *zif268*^{-/-} ont des déficits de mémoire à long terme (à droite). La mémoire à court terme est intacte (à gauche). Modifié d'après Jones et al., 2001.

Ils se sont ensuite demandé si ce déficit à long terme pouvait être reproduit dans une tâche de détection d'un changement spatial (Bozon et al., 2002). Ce test consiste à déplacer un des objets familiers à un nouvel endroit dans l'arène. Dans ce protocole, trois objets sont utilisés au lieu de deux, ainsi qu'une carte sur une des parois de l'arène pour aider les animaux à ancrer l'endroit de chaque objet dans l'espace. Afin de pouvoir comparer directement la mémoire du changement spatial avec celle de la reconnaissance d'objet, le test de la mémoire de reconnaissance d'objets a été répliqué avec trois objets. Les résultats montrent que chez les souris *zif268*^{-/-}, la mémoire de la configuration spatiale est sévèrement affectée, de même que la mémoire à long terme des objets (figure 4.7).

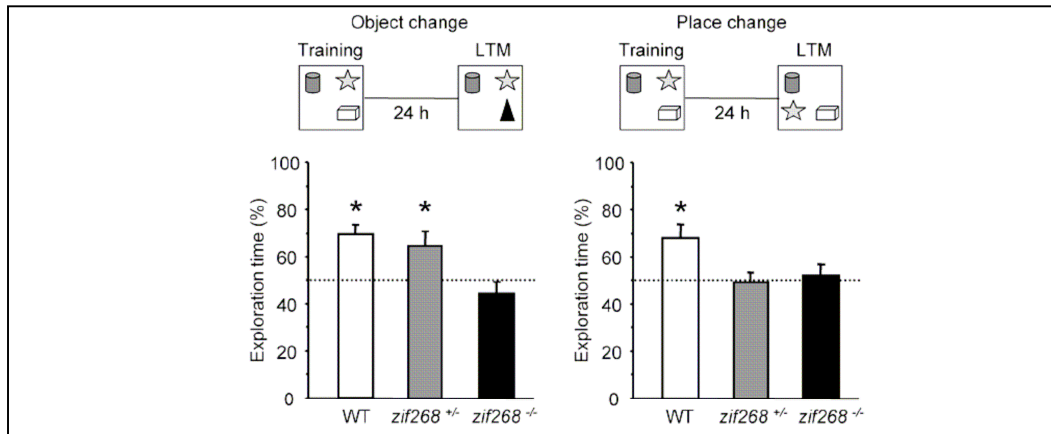


Figure 4.7. Mémoire à long terme pour les objets et pour l'emplacement spatial des objets altérée chez les souris $\text{zif268}^{-/-}$. Dans l'arène il y a trois objets et un indice sous forme de carte placé sur une des parois de l'arène. Les souris sont exposées aux trois objets et sont testées 24 heures plus tard soit en remplaçant un objet familier par un nouveau (à gauche), soit en déplaçant un objet familier à un nouvel endroit de l'arène (à droite). Les histogrammes représentent le temps passé à explorer l'objet nouveau ou l'objet déplacé. $\text{Zif268}^{-/-}$ ont une mauvaise mémoire à long terme à la fois dans la tâche de reconnaissance d'objet et dans la tâche de détection du changement spatial, alors que les $\text{zif268}^{+/-}$ sont mauvaises uniquement dans la détection du changement spatial. Modifié d'après Bozon et al., 2002.

En outre, les auteurs ont testé des souris hétérozygotes $\text{zif268}^{+/-}$ et $\text{zif268}^{-/-}$ dans toutes les tâches décrites précédemment, afin d'évaluer si les déficits de mémoire sont gène-dose dépendants. Les performances des souris hétérozygotes paraissent en fait assez hétérogènes en fonction des tâches. Les souris hétérozygotes sont capables comme les contrôles, de former des souvenirs à long terme dans la tâche de reconnaissance d'objets (figure 4.6 et 4.7). Elles montrent des performances intermédiaires entre les contrôles et les homozygotes $\text{zif268}^{-/-}$ dans les tâches d'aversion gustative conditionnée et de transmission sociale de préférence alimentaire. Ces souris présentent néanmoins des déficits de rétention à long terme aussi sévères que les homozygotes $\text{zif268}^{-/-}$ dans la tâche de navigation spatiale de la piscine de Morris et dans la version spatiale de la tâche de reconnaissance d'objets (Jones et al., 2001 ; Bozon et al., 2002). Ces résultats suggèrent donc qu'il n'existe pas une relation simple entre la « quantité » du gène (ou de la protéine) et les performances comportementales, et que si un seuil minimum d'activation du gène zif268 est nécessaire à la consolidation des souvenirs, ce seuil doit être différent en fonction de la complexité de la tâche ou du type de mémoire impliqué. Ces résultats suggèrent aussi que si le gène zif268 n'est pas complètement absent, les déficits de mémoire sont d'autant plus importants que la demande spatiale de la tâche augmente.

En résumé, ces études suggèrent que zif268 est nécessaire pour la consolidation des souvenirs.

4.2.4. Zif268 et la re-consolidation des souvenirs

Les théories sur la consolidation admettent que les souvenirs après l'encodage, restent labiles pendant une fenêtre temporelle donnée (mémoire à court terme). Ces souvenirs deviennent ensuite résistants aux changements et stables grâce à la consolidation (mémoire à long terme). Des recherches récentes ont cependant envisagé la possibilité que des souvenirs consolidés, lorsqu'ils sont rappelés, pourraient redevenir labiles et devraient de nouveau nécessiter une période de stabilisation à partir d'un processus similaire à la consolidation initiale : la reconsolidation (Misanin et al., 1968 ; Lewis et al., 1968 pour les premières démonstrations sur le phénomène de reconsolidation ; Mactutus et al., 1979 ; Przybyslawski et Sara, 1997 ; Sara, 2000 ; Nader et al., 2000 ; Nader, 2003 pour une revue). Dans la littérature actuelle, une question centrale est de savoir si les processus de reconsolidation des souvenirs rappelés engagent les mêmes mécanismes que ceux utilisés au moment de la consolidation. Un certain nombre d'études a montré que les souvenirs consolidés, lorsqu'ils sont rappelés, sont vulnérables à l'inhibition de la synthèse protéique (injection d'anisomycine juste après le rappel), de la même manière que les souvenirs nouvellement formés, ce qui suggère que les événements intracellulaires nécessaires pour la consolidation initiale des souvenirs sont ré-engagés après le rappel et donc essentiels pour tout rappel ultérieur (Debiec et al., 2002 ; Myers et Davis, 2002 ; Nader et al., 2000). Ces hypothèses ont été confirmées chez de nombreuses espèces animales ainsi que chez l'homme (Walker et al., 2003 ; Dudai et Eisenberg, 2004 ; Alberini, 2005 ; Galluccio et al., 2005 ; Hupback et al., 2007). Très peu d'études ont cherché à comprendre plus précisément le rôle des gènes et des protéines impliqués dans la reconsolidation. Bozon et al. (2003) ont cherché à évaluer le rôle de zif268 dans la reconsolidation, grâce à une tâche de reconnaissance d'objets chez les souris KO pour zif268. Cependant, si on souhaite évaluer la reconsolidation chez ces souris mutantes (zif268^{-/-}), le pré-requis est d'avoir une consolidation normale, ce qui, comme nous l'avons vu précédemment n'est pas le cas chez ces souris. En utilisant une procédure d'apprentissage distribué et répété (sur apprentissage) (Jones et al., 2001), les auteurs ont obtenu une consolidation normale chez des souris mutantes. Ainsi, lorsque ces souris sont testées 48 heures (et même 5 jours) après l'entraînement intensif, elles montrent des performances de rétention aussi bonnes que des souris contrôles (figure 4.8a) (Bozon et al., 2003).

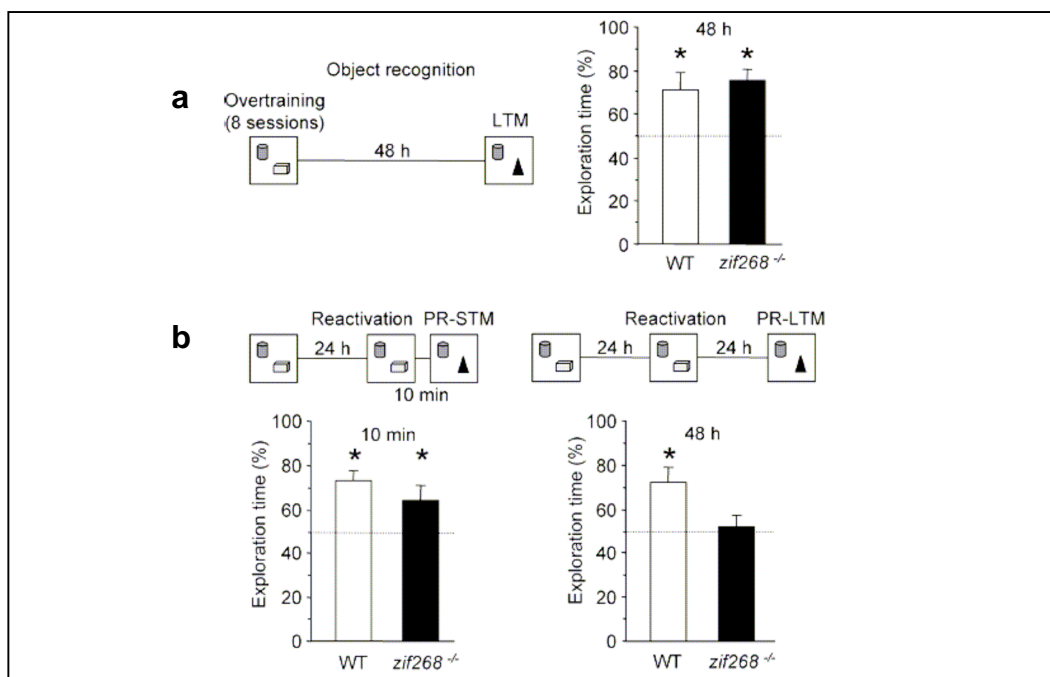


Figure 4.8. La reconsolidation de la mémoire de reconnaissance d'objets est altérée chez les souris mutantes *zif268*^{-/-}. **a.** Les souris sont exposées à 8 sessions d'apprentissage espacées (surapprentissage) et leur mémoire est testée 48 heures plus tard. Dans ces conditions, les mutantes montrent une mémoire à long terme normale. **b.** Quand les mutantes sont ré-exposées brièvement au contexte d'apprentissage 24 heures après l'entraînement, la mémoire à court terme est intacte (PR-ST post reactivation short term memory), tandis que la mémoire à long terme est affectée (PR-LTM post reactivation long term memory). La session de réactivation 24 heures après le surapprentissage aurait un effet de 'reset' sur le surapprentissage. Ensuite, une seule exposition ne suffit pas pour consolider de nouveau le souvenir des objets chez les souris *zif268*^{-/-}. Modifié d'après Bozon et al., 2003.

Etant donné que les souris mutantes montrent une consolidation normale grâce au sur-apprentissage, les auteurs peuvent évaluer la re-consolidation par l'effet du rappel (ou réactivation) interposé entre l'apprentissage et la rétention. Lorsque la mémoire des objets est réactivée 24 heures après l'apprentissage par une ré-exposition brève des souris aux objets familiers, les souris mutantes ne montrent pas de préférence pour l'objet nouveau le jour suivant la réactivation, contrairement aux souris contrôles. En revanche, lorsque les souris mutantes sont testées 10 minutes après la réactivation, elles visitent de manière prépondérante l'objet nouveau, tout comme les contrôles (figure 4.8b). Ces résultats montrent que les souris mutantes ont une mémoire à long terme post-réactivation affectée, alors qu'elles gardent une mémoire à court terme post-réactivation intacte. Cela suggère que *zif268* est un gène impliqué dans la reconsolidation de la mémoire des objets.

En serait-il de même dans une mémoire impliquant la mémoire de la configuration spatiale ? Nous savons que plus la demande spatiale de la tâche est importante, plus les souris mutantes présentent des déficits de mémoire à long terme. Il serait

raisonnable de penser que l'on pourrait retrouver les mêmes déficits dans le protocole de reconsolidation adapté à la tâche de mémoire d'un changement spatial. J'ai donc réalisé cette expérience dans le cadre de ma thèse, afin d'évaluer si le déficit de reconsolidation des souris *zif268*^{-/-} était généralisable à d'autres formes de mémoire que celle de la reconnaissance d'objets et notamment à celle de la mémoire spatiale.

Bozon et al. (2003) ont également évalué l'effet spécifique de la réactivation sur la reconsolidation en examinant les performances post-réactivation (24 heures après) lorsque les souris sont ré-exposées (réactivation) à l'arène vide sans les objets, ou bien à l'arène avec deux objets complètement différents, ou encore aux deux objets familiers dans une arène complètement différente. Dans tous les cas, lors du test de rétention 24 heures après la réactivation, les souris mutantes ont préférentiellement exploré le nouvel objet, c'est à dire qu'elles ont les mêmes performances que les contrôles. Donc les processus de reconsolidation de la mémoire de reconnaissance dépendant de *zif268* ne peuvent s'amorcer que si le même contexte (arène + objets) que celui de l'apprentissage est rappelé, lui seul permettant de réactiver le même souvenir, et de le rendre ainsi de nouveau labile (figure 4.9).

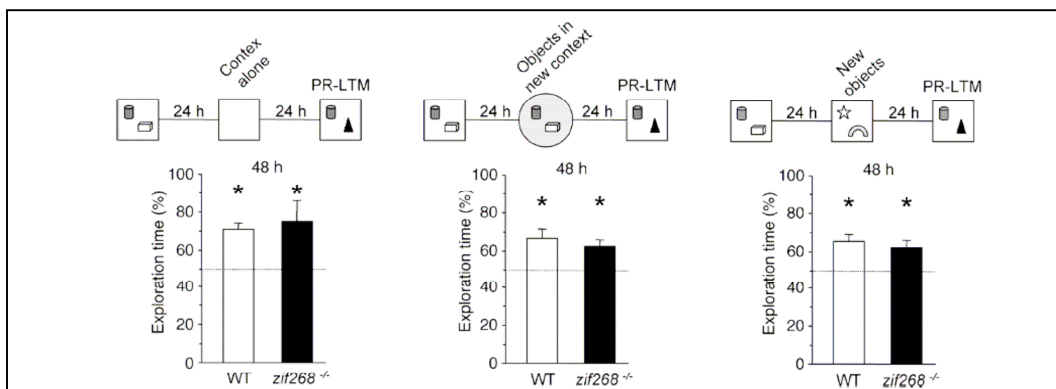


Figure 4.9. Pas de perturbation de reconsolidation de mémoire de reconnaissance d'objets des souris mutantes si la session de réactivation ne rappelle pas exactement le contexte de l'apprentissage. La ré-exposition (réactivation) au contexte seul (gauche), aux mêmes objets dans un contexte différent (milieu), ou à deux objets différents dans le même contexte ne suffisent pas pour altérer la mémoire à long terme de reconnaissance. (Modifié d'après Bozon et al., 2003).

Il serait très intéressant d'enregistrer chez les souris *zif268*^{-/-}, l'activité électrophysiologique des cellules de lieu dans ce protocole de reconsolidation. On pourrait prédire à partir des résultats de Bozon et al. (2003), que les champs d'activité des cellules de lieu de souris mutantes présenteraient du *remapping*, au lieu d'être stables comme chez les souris contrôles, lors du test de rétention 24 heures après la réactivation au contexte d'apprentissage.

Au contraire, si lors de la ré-exposition (réactivation), l'environnement ne présente pas tout à fait les mêmes caractéristiques, on peut faire l'hypothèse que la représentation spatiale de la session initiale ne sera pas rappelée au moment de la réactivation. Par conséquent, lors de la session de rétention 24 heures après la réactivation, on peut s'attendre à ce que les champs soient stables puisque la session de réactivation ne va pas rappeler la représentation déjà consolidée et donc la représentation ne nécessitera pas de reconsolidation. Cette étude pourrait représenter un parallèle intéressant entre les cellules de lieu et le comportement des souris mutantes pour *zif268*.

D'autres travaux ont montré que les protéines kinases MAPK/ERK, qui font partie de la cascade moléculaire qui permet de déclencher l'expression de *zif268* dans les neurones (Davis et al., 2000), sont aussi nécessaires pour la consolidation et la reconsolidation de la mémoire de reconnaissance d'objets (Kelly et al., 2003), ainsi que pour la mémoire d'un conditionnement à la peur (Duvarci et al., 2005).

Pour résumer, le gène *zif268* semble donc nécessaire à la fois à la consolidation et à la reconsolidation de la mémoire de reconnaissance (Jones et al., 2001 ; Bozon et al., 2003). L'équipe de Laroche (Bozon et al., 2002, 2003 ; Jones et al., 2001) a été la première à mettre en évidence qu'un gène précoce est nécessaire à l'expression durable de la plasticité synaptique et à la formation des souvenirs à long terme (suivi d'autres travaux de Plath et al. (2006) avec des souris mutantes pour le gène précoce *Arc*). L'analyse électrophysiologique des circuits de l'hippocampe chez la souris mutante éveillée montre que les propriétés d'induction de la plasticité synaptique sont conservées, mais que les neurones de l'hippocampe ne peuvent maintenir cette plasticité au-delà de quelques heures. Corrélativement, les analyses comportementales des fonctions mnésiques montrent que la mémoire à court terme des souris mutantes est intacte mais qu'elles sont incapables de retenir l'information au-delà de plusieurs heures dans des tâches de mémorisation de l'espace, de reconnaissance d'objets familiers ou des tests de mémoire olfactive ou gustative. Il reste encore à identifier les gènes cibles de *zif268* dont les produits protéiques assurent le remodelage stable des réseaux neuronaux et la conservation des souvenirs.

Si toutes ces études récentes sur la souris modifiée génétiquement pour le gène *zif268* suggèrent que *zif268* joue un rôle crucial dans la plasticité synaptique et la mémoire à long terme, les mécanismes par lesquels ce gène contrôle l'efficacité synaptique et les propriétés de traitement et de stockage de l'information dans les réseaux neuronaux restent inconnus.

4.3. Zif268 et cellules de lieu ?

Même si les cellules de lieu et la PLT ont été découvertes dans l'hippocampe il y a une trentaine d'année, assez peu de travaux établissent l'existence d'un lien entre les deux phénomènes. A ce sujet, une question centrale persiste : est ce que les mécanismes qui sous-tendent la PLT peuvent participer à la formation ou à la stabilisation des cellules de lieu ? Les quelques études qui ont tenté de répondre à cette question ont montré qu'une perturbation de la PLT induite par une approche pharmacologique (Kentros et al., 1998), ou par une approche post-génomique (McHugh et al., 1996 ; Rotenberg et al., 1996, 2000 ; Cho et al., 1998 ; Cacucci et al., 2007 ; McHugh et al., 2007) s'accompagne d'un déficit d'apprentissage spatial et d'anomalies de la décharge des cellules de lieu, s'exprimant par une instabilité des champs.

Au cours de ma thèse, j'ai examiné les propriétés et la stabilité dans le temps des champs d'activité des cellules de CA1 de l'hippocampe chez les souris *zif268^{-/-}*, déjà bien caractérisées sur la plan comportemental, afin de déterminer dans quelle mesure cette délétion génétique spécifique affecte la représentation de l'espace et plus globalement affecte le souvenir à long terme de l'environnement.

Cette étude est la première à évaluer la contribution d'un gène immédiat précoce (IEG) dans l'activité des cellules de lieu et de ce fait, dans la flexibilité nécessaire pour la formation, le maintien et la restitution de la mémoire spatiale. Ce travail fournira un argument supplémentaire à l'hypothèse qu'un déficit dans les mécanismes de plasticité synaptique peut contribuer à une instabilité des représentations spatiales, menant aux déficits d'apprentissage spatial et de mémoire.

Quatrième partie

Contribution expérimentale

« Le principal problème des sciences de la vie, notamment de la biologie et de la médecine, est la reproductibilité d'un phénomène. En effet, les organismes vivants sont sensibles à une multitude de paramètres qu'il est d'une part difficile d'isoler, et d'autre part, plus on isole les paramètres, plus on s'éloigne de la réalité. »

Claude Bernard, fondateur de la médecine expérimentale.

« Si vous fermez la porte à toutes les erreurs, la vérité restera dehors. »
Rabindranath Tagore, écrivain, Inde.

Dans les chapitres suivants, je présente les expériences réalisées au cours de ma thèse.

Je décris d'abord les matériels et méthodes communs utilisés pour les deux principales expériences d'électrophysiologie.

Ensuite, je décris le premier travail (**article n°1**) dans lequel j'ai étudié la flexibilité des représentations spatiales en adaptation à des modifications environnementales. Pour répondre à cette question, j'ai enregistré l'activité des cellules de lieu de l'hippocampe dans une procédure de double rotation menant à un conflit entre les repères proximaux et les repères distaux d'un environnement familier. Cette expérience a été réalisée chez le rat.

Puis, dans un deuxième travail (**article n°2**), j'ai étudié les aspects mnésiques de la flexibilité de ces représentations spatiales, grâce à l'enregistrement de l'activité des cellules de lieu. L'intérêt de ce travail était d'évaluer la stabilité des cellules de lieu d'une souche de souris présentant des déficits de mémoire à long terme (souris *zif268^{-/-}*).

Dans un troisième travail (**étude n°3**), j'ai étudié la reconsolidation de la mémoire spatiale des souris *zif268^{-/-}*. Les souris *zif268^{-/-}* ont pour cela été testées dans la version spatiale de la tâche de reconnaissance d'objets (détection du changement de la configuration spatiale).

Ces travaux ont été publiés ou sont en préparation pour des journaux internationaux :

– **Article n°1** : Renaudineau S, Poucet B, Save E (2007). *Flexible use of proximal objects and distal cues by hippocampal place cells*. *Hippocampus*. 17(5):381-95.

– **Article n°2** : Renaudineau S, Poucet B, Laroche S, Davis S and Save E. *Mice lacking ZIF268 immediate early gene are impaired in the expression of long-term spatial memory by CA1 hippocampal place cells*. (en préparation)

– **Chapitre de livre** : Save E, Hok V, Renaudineau S, Parron C, Poucet B (2007). *Cue and goal encoding in rodents: A source of inspiration for robotics?* M. Jefferies et A. Yeap (Eds), *Robotics and Cognitive Approaches to Spatial Mapping*. Springer-Verlag. 38, 163-180.

On pourra se référer aux articles pour trouver une description plus exhaustive des méthodes et des résultats.

Chapitre 5

Matériels et méthodes communs

L'expérience acquise au cours de la première partie de ma thèse, dans laquelle j'ai réalisé l'enregistrement de cellules de lieu chez le rat, m'a permis de mettre en place un poste d'enregistrement électrophysiologique unitaire chez la souris. Une partie de ma thèse a été consacrée à la mise au point de nouvelles techniques au sein du laboratoire, d'une part adaptées à la petite taille de la souris, d'autre part permettant une évolution des méthodes générales d'enregistrement rat / souris. Ces développements ont concerné :

- 1) La fabrication et utilisation des tétrodes (jusqu'alors, le laboratoire utilisait des électrodes simples brins). Ces électrodes constituées de quatre brins torsadés entre eux permettent une très bonne discrimination des différentes cellules enregistrées simultanément.
- 2) La mise au point d'un nouveau plot porte-électrodes et micro-descendeur adaptés à la taille de la souris.
- 3) Pour la chirurgie, la mise au point d'une technique d'implantation des électrodes chez la souris nécessitant du matériel et des soins nouveaux.
- 4) L'utilisation d'un nouveau système d'acquisition et d'un nouveau logiciel d'acquisition, de traitement et d'analyse de données électrophysiologiques (Sciworks développé par Datawave).

L'ensemble de ce travail de mise au point du poste d'enregistrement électrophysiologique chez la souris bénéficie à l'ensemble des membres de l'équipe, d'une part pour des études chez le rat avec les tétrodes, et d'autre part pour des études chez d'autres souches de souris génétiquement modifiées (par exemple, souris KO pour le gène L7-PKCI : Burguière et al., 2005).

Je décrirai dans cette partie les matériels et méthodes communs aux deux principales expériences électrophysiologiques de cette thèse. Les modèles utilisés dans les deux expériences n'étant pas les mêmes (rat et souris), les méthodes peuvent varier notamment sur la construction des électrodes et sur les différents produits anesthésiques, mais le schéma général du mode opératoire reste inchangé.

5.1. Animaux

5.1.1. Rats

Les animaux utilisés sont des rats mâles de souche *Long Evans* pesant entre 250 et 350 grammes au moment des expériences. Ils ont été quotidiennement manipulés durant les quinze jours précédant la chirurgie.

Les rats sont hébergés dans des cages individuelles (40 x 26 x 16 cm de hauteur), dans une pièce tempérée ($20^{\circ} \pm 2^{\circ}$) avec un cycle jour/nuit positif de 12/12h. Les animaux ont accès à l'eau et la nourriture ad libitum.

5.1.2. Souris

Afin d'étudier les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent les processus de plasticité et de mémoire, et en particulier afin de comprendre l'implication du gène immédiat précoce *zif268* dans ces mécanismes, j'ai réalisé des enregistrements unitaires pour analyser les propriétés de décharge des cellules de lieu de l'hippocampe chez des souris génétiquement modifiées pour le gène *zif268*.

Avec l'avancée rapide des progrès dans le domaine de la génétique, il est de plus en plus fréquent dans le domaine des neurosciences d'utiliser des animaux génétiquement modifiés, porteurs d'une mutation sur un gène, afin de tester l'implication du gène muté et de ses sous produits dans différents processus fonctionnels. Il existe différents types de souris génétiquement modifiées permettant d'étudier de façon ciblée un gène ou une fonction cellulaire.

Par exemple, les souris « knock-in » (ou souris transgéniques), sont des animaux chez lesquels on insère une ou plusieurs copies d'un gène afin d'en augmenter l'expression. Les produits de ce gène peuvent être activateurs et entraîner par exemple l'augmentation du nombre de sous-unités d'un récepteur (Okabe et al., 1998 ; Tang et al., 1999) ou bien répresseurs pour inactiver un processus cellulaire comme par exemple l'expression d'inhibiteur de la protéine kinase C (PKC) (De Zeeuw et al., 1998). L'insertion de gènes permet aussi de marquer l'expression génique ou protéique. Le plus couramment utilisé est le gène *lacZ* qui code pour la β -galactosidase dont la présence est facilement détectable en présence de X-Gal ou d'anticorps fluorescents. Par exemple, inséré en liaison avec des séquences CRE, *lacZ* permet de marquer les circuits neuronaux où une activation des sites CRE a lieu lors de l'apprentissage (Impey et al., 1996).

Un autre moyen d'étudier la fonction du gène, et certainement le plus utilisé, est de l'invalider par la création de souris « knock-out » (KO). Il existe plusieurs types de souris K.O. Le premier type, standard, consiste à invalider le gène de façon irréversible et de manière non sélective vis à vis d'un organe ou d'un type cellulaire donné. Dans ce cas les animaux naissent par exemple sans que le gène ne soit présent dans aucune région du cerveau (exemple de nos souris KO pour le gène *zif268*). Un autre type de souris permet d'obtenir une spécificité pour des régions tissulaires. Grâce à l'utilisation de promoteurs spécifiques, on peut invalider un gène dans la partie où le promoteur est sélectivement exprimé (système CRE-*LoxP*), comme cela a été fait dans l'équipe de Susumu Tonegawa pour invalider le gène codant la sous-unité NR1 des récepteurs NMDA dans la région CA1 spécifique (Tsien et al., 1996), ou plus récemment dans le gyrus denté de l'hippocampe (McHugh et al., 2007).

Enfin un troisième type de manipulation de gène consiste à contrôler temporellement l'initiation de l'expression du gène d'intérêt (K.O. inducibles). Dans ce cas, l'invalidation du gène va dépendre de l'administration d'un facteur exogène (par exemple, tétracycline donnée dans la nourriture), qui permettra d'induire la transcription, ce qui permet un contrôle temporel précis (Mills, 2001; Schonig et Bujard, 2003).

Les techniques de manipulations génétiques conditionnelles, permettant le contrôle du gène d'intérêt spatialement et temporellement, peuvent être combinées, ce qui permet de cibler à la fois la délétion à un endroit précis du cerveau (jusqu'à une sous région comme CA1 ou CA3), et le moment désiré, ce qui permet un degré de précision très important.

Les souris zif268

Les souris mutantes pour le gène *zif268* ont été générées par le groupe de Patrick Charnay (Topilko et al., 1998). La construction des souris *zif268* a été effectuée par l'injection de cellules *zif268*^{+/+} ES dérivées de la souche 129/SV dans des blastocystes de souche C57Bl/6J pour obtenir des mâles chimères, qui ont ensuite été croisés avec des femelles C57Bl/6J. Le vecteur contenu dans les cellules ES contient le gène codant pour *zif268* avec une mutation au niveau du site unique *NdeI* localisé au début de la séquence codant pour le premier doigt de zinc, ainsi que l'addition d'une *neo-LacZ* entre le promoteur et la région initiatrice du gène *zif268*. L'hybridation in situ confirme l'absence complète de *zif268* chez les souris mutantes homozygotes (*zif268*^{-/-}). En outre, l'expression constitutive et induite par la PLT du gène *LacZ* est comparable à celle du gène *zif268* chez les souris contrôles, ce qui suggère que la cascade de signalisation en amont de la

transcription du gène *zif268* n'est pas affectée. Bien qu'ayant un poids normal à la naissance, les animaux homozygotes *zif268*^{-/-} présentent une courbe de croissance plus lente que celle des animaux sauvages de la même portée, pour se stabiliser à l'âge adulte à un poids globalement inférieur de 20 % au poids normal. Les souris *zif268*^{-/-}, aussi bien mâles que femelles, sont stériles. Les mâles ne montrent pas un comportement sexuel caractéristique comme l'agressivité envers les autres mâles et les femelles n'ont pas d'œstrus. Des études ont montré que l'anatomie générale du système nerveux, la transmission synaptique basale dans l'hippocampe, l'excitabilité cellulaire, le comportement général ainsi que l'activité motrice des souris *zif268*^{-/-} ne diffèrent pas des souris contrôles. Lors des expériences, je n'ai utilisé que de souris homozygotes *zif268*^{-/-} mâles et leur équivalent sauvage *zif268*^{+/+} élevé dans les mêmes conditions.

Hébergement des souris KO

Les animaux sont nés à l'animalerie transgénique d'élevage d'Orsay (n° agrément A 91-471-104). Les souris sont arrivées déjà adultes, à l'âge de trois mois à Marseille et ont été hébergées dans l'animalerie transgénique du pôle 3C (n° agrément A 13-055-25). Les souris sont logées dans des cages individuelles (36 x 20 x 14 cm de hauteur) disposées dans des armoires tempérées (20° ± 2°) avec un contrôle de l'hygrométrie et un cycle jour/nuit positif de 12/12h. Les animaux ont accès à l'eau et la nourriture *ad libitum*.

A leur arrivée au laboratoire, les souris *zif268* ont été maintenues dans le nouvel environnement de l'animalerie pendant un mois pour une bonne acclimatation et ont été manipulées régulièrement quinze jours avant le début des expériences.

Toutes les précautions concernant l'hébergement et les manipulations des rats et des souris ont été prises en respect avec le NIH (NIH publication n° 86-23, revised 1987) et avec les directives européennes sur l'éthique dans l'expérimentation animale (European Community Council Directive november 24, 1986, 86/609/EEC) et avec les directives françaises (Conseil n° 87848 de Direction des Services Vétérinaires de la Santé et de la Protection Animale permission n°13.24 du ministère de l'Agriculture et de la Pêche).

5.2. Fabrication des plots porte-électrodes

5.2.1. Rat

La technique pour la fabrication des plots est celle décrite par Kubie (1984). Un faisceau de dix électrodes est inséré dans une canule guide ($\varnothing = 0.4$ mm, $L = 14$ mm) soudée à la fiche centrale d'un connecteur circulaire de type *Augat*. Chaque électrode est constituée d'un fil de Nickel-chrome isolé d'une gaine de plastique ($\varnothing = 25$ μ m). L'extrémité dénudée de chaque fil est enroulée puis soudée autour de la partie mâle d'une des dix fiches périphériques du connecteur. L'ensemble, composé des fils, des soudures, du connecteur est recouvert d'une couche d'acrylamide. Enfin, trois vis protégées par un manchon de nylon sont disposées en triangle autour du connecteur. L'assemblage final des vis et du connecteur se fait grâce à de l'acrylamide et l'extrémité libre des électrodes est coupée de façon à ce qu'elle dépasse de la canule d'une longueur de 1 mm. L'activité électrique sera donc enregistrée au niveau de la section du fil (le reste du fil étant recouvert de gaine isolante). Les manchons étant fixés sur le crâne, seule la canule et les électrodes pénètrent dans le crâne de l'animal. Les vis dont le pas est de 450 μ m, permettent à l'expérimentateur de descendre de manière très fine (par pas de 25 à 50 μ m) les électrodes dans le cerveau et de traverser les différentes couches des structures d'intérêt. Le nombre de tours de vis associé au point d'implantation initial permet de reconstruire l'historique des signaux enregistrés, et donc d'en déduire les différentes couches neuronales traversées au cours de l'expérience (figure 5.1 A et C).

5.2.2. Souris

Mon travail a consisté à mettre au point un système adapté à la souris, et parallèlement, à mettre en place l'utilisation des tétrodes à la place de fils simples utilisés jusqu'alors chez le rat (figure 5.1 B et D).

Le principe de fabrication des plots porte-électrodes est comparable à celui utilisé chez le rat. Néanmoins, afin de s'adapter à la taille de la tête de la souris, des vis et des manchons beaucoup plus petits ont été utilisés. Le pas de vis équivaut désormais à 120 μ m. La longueur de la canule n'est plus la même non plus ($L = 8$ mm).

Le connecteur a changé aussi entre l'expérience réalisée chez le rat et l'expérience réalisée chez la souris. Nous utilisons désormais un connecteur rectangulaire de type *MillMax* et comportant 18 fiches en deux rangées de 9 fiches, permettant le

placement de 16 fils ou de 4 tétrodes (une fiche servant de support à la canule et une autre non utilisée), chacune constituée de 4 fils torsadés. Chaque connecteur contient 4 tétrodes. Passer des enregistrements avec des électrodes simple brin aux tétrodes a marqué une évolution technique importante en améliorant le pouvoir de discrimination des signaux (voir explications figure 5.1 C et D).



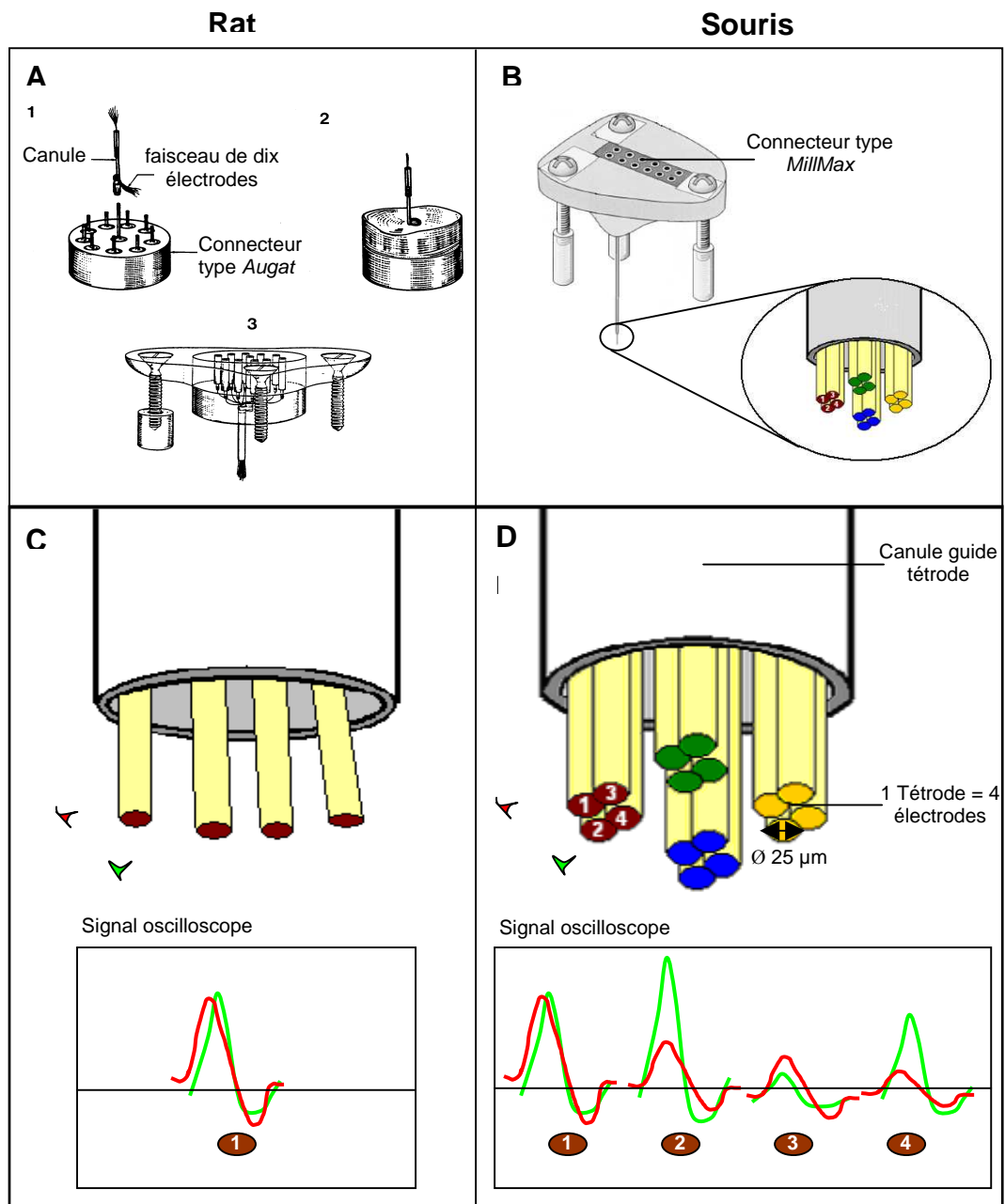


Figure 5.1. A. Etapes de la construction d'un plot / micro-descendeur d'électrodes. (1) Fixation de la canule contenant les fils d'électrode sur la fiche centrale du connecteur (*Augat*). (2) Inclusion du connecteur dans l'acrylique. (3) Ajout des vis avec manchon et inclusion dans l'acrylique pour l'obtention d'un plot (D'après Kubie, 1984). **B. Mise en place d'un nouveau plot adapté aux dimensions de la souris.** Les étapes sont comparables, mais le connecteur est différent (*MillMax*) et les différentes pièces (vis + manchons) composant le plot sont plus petites. **C. et D. Comparaison tétrodes (D) / électrodes simple brin (C).** L'amplitude des signaux extracellulaires émis par un neurone en activité, décroît avec la distance. Une tétrode est un regroupement torsadé de 4 électrodes, qui a pour but d'isoler les trains de potentiel émis par plusieurs neurones simultanément à un niveau très local (ici 2 neurones sont représentés en rouge et vert ainsi que leurs signaux respectifs). La séparation des signaux est basée sur l'amplitude relative des potentiels d'action qui apparaissent simultanément sur les 4 électrodes de la tétrode. Alors qu'il est relativement aisé de séparer les signaux arrivant sur une tétrode, il est plus difficile de discriminer les signaux comme appartenant à deux neurones distincts dans le cas d'une équidistance de ces neurones avec l'électrode simple brin. Dans l'expérience réalisée chez le rat (article 1), j'ai utilisé 10 électrodes simple brin, alors que dans l'expérience réalisée chez la souris (article 2), j'ai utilisé quatre tétrodes (16 électrodes). Dans notre équipe, la nouvelle technique des tétrodes est désormais utilisée chez les rats.

5.3. Entraînement pré-chirurgie

5.3.1. Rat

Le but de l'entraînement est d'inciter les animaux à se déplacer constamment pour permettre un échantillonnage suffisant de l'environnement en 15 minutes (temps d'une session d'enregistrement). Pour cela, avant le début de l'entraînement, les rats sont privés de nourriture afin que leur poids soit réduit et maintenu à 85% du poids *ad libitum* durant toute la durée des expériences. Ainsi, une fois placés dans le dispositif, les animaux apprennent à se déplacer à la recherche de granulés de nourriture. L'animal est aussi, pendant cette période d'entraînement, familiarisé pendant deux semaines à la pièce expérimentale mais dans une arène différente de celle utilisée lors de l'expérience.

5.3.2. Souris

Les souris n'ont pas besoin de subir une restriction alimentaire pour chercher des granulés de nourriture car elles présentent une activité locomotrice spontanée suffisante, qui permet un échantillonnage correct de l'environnement. Les animaux sont exposés pendant trois semaines à un environnement carré pour qu'ils soient familiarisés à cet environnement (sans récompense alimentaire).

5.4. Chirurgie

5.4.1. Rat

La chirurgie pour l'implantation du plot d'électrodes est réalisée dans des conditions stériles et sous anesthésie générale. Afin de prévenir les problèmes respiratoires liés à l'anesthésie, les rats reçoivent une dose de 0.3 ml d'atropine (0.25 mg/kg, i.p.). Ils reçoivent ensuite une injection de pentobarbital (40 mg/kg, i.p., Sanofi Santé Animal, Libourne, France). Une fois l'animal placé dans l'appareil stéréotaxique, les tissus de la surface du crâne sont incisés et l'os est exposé en réclinant la peau et les muscles sous-jacents jusqu'aux crêtes osseuses latérales. Pour l'implantation du plot, trois vis sont placées dans le crâne: une vis est placée au-dessus de l'hémisphère droit, une autre au-dessus du bulbe olfactif droit et la dernière au-dessus de l'hémisphère gauche. Enfin, une vis en T est placée au-dessus de l'hémisphère gauche. Ces vis serviront de support et de prise au ciment qui sera placé ultérieurement. Afin d'introduire l'extrémité de la canule

contenant les électrodes dans le cerveau, un orifice est percé dans le crâne, soit au-dessus de l'hippocampe droit selon les coordonnées suivantes par rapport au bregma : AP = -3.8 mm, L = -3 mm et DV = -1.5 mm par rapport à la surface du cerveau. L'électrode est placée au dessus de CA1, mais l'électrode peut être enfoncée dans le plan dorso-ventral, jusqu'à CA3. Une fois le plot mis en place, le trou de l'implantation est recouvert de vaseline stérile et de ciment dentaire pour fixer les manchons aux vis ancrées dans le crâne de l'animal. La plaie est ensuite enduite de pommade antibiotique et l'animal reçoit une injection de 0.05 ml d'antibiotique à effet retard (Terramycine, 60 mg/kg, i.m., Pfizer, Paris, France) et de 0.04 ml d'analgésique en sous cutané (Tolfédine, 0.06 mg/kg, s.c., Vétoquinol, Lure, France). La période de récupération dure une semaine pendant laquelle les animaux sont nourris ad libitum.

5.4.2. Souris

Les animaux sont anesthésiés avec une injection i.p. de 0.1 ml pour 10 g de poids d'un mélange de 5 % de xylozine (10mg/kg, Rompun, Bayer, France), de 10% de kétamine (100 mg/kg, Imalgène, Merial, France) et de 85% de NaCl. La pointe des tétrodes est placée au dessus de l'hippocampe droit, aux coordonnées suivantes : AP = -2 mm, L = -2 mm par rapport au bregma, DV = -0.7 mm par rapport à la surface du cerveau. A la différence du rat, le ciment n'est pas ancré par des vis enfoncées dans l'épaisseur du crâne. Des stries sont réalisées à la surface du crâne à l'aide d'un scalpel. Les manchons sont ensuite collés à la surface du crâne par une fine couche de colle cyanolite (cyanoacrylate). Une fois la couche de cyanolite sèche, les manchons sont rendus solidaires du crâne à partir d'un ciment dentaire plus puissant que celui utilisé pour les rats (Dentsply, Woodbridge, ON, Canada). Pour finir, au lieu d'une injection d'analgésique, les souris reçoivent quelques gouttes de paracétamol (Efferalgan sucré, sirop pour enfant) dans l'eau de boisson.

5.5. Technique d'enregistrement

5.5.1. Pièce d'enregistrement

Afin d'éviter que les animaux n'utilisent d'autres indices que ceux mis à leur disposition, les arènes utilisées dans les expériences sont entourées d'un rideau circulaire ($\varnothing = 250$ cm). L'ensemble du dispositif est éclairé à l'aide de quatre spots lumineux (25 W) disposés symétriquement au-dessus de l'arène. Enfin, une radio, fixée à l'aplomb et au centre du dispositif, diffuse un programme musical

continu (>70 dB), afin de masquer d'éventuels indices sonores directionnels. Pour les enregistrements chez le rat, un distributeur automatique de nourriture situé à la verticale du dispositif laisse tomber des granulés de nourriture (20 mg, Noyes), qui rebondissent et se répartissent aléatoirement sur le sol de l'arène. L'ordinateur et l'équipement d'enregistrement sont situés dans une pièce adjacente à la pièce contenant l'arène expérimentale.

5.5.2. Enregistrement

L'objectif de la technique utilisée est d'associer chaque évènement électrophysiologique à la position occupée par l'animal lors de l'apparition de l'évènement. Le dispositif d'enregistrement est représenté sur la figure 5.2. Il comporte la pièce de tête qui est connectée sur le plot de tête de l'animal, le module portant des pré-amplificateurs opérationnels pour amplifier le signal de chaque électrode et le câble qui conduit les signaux pré-amplifiés à un commutateur tournant. La partie fixe du commutateur est connectée à un tableau de commande à partir duquel l'expérimentateur peut sélectionner la source du signal voulu. A partir du tableau de commande, les signaux sont filtrés et amplifiés par des amplificateurs différentiels de type AM (gain = 10000, bande passante = 300 à 6000 Hz), puis envoyés à une carte d'acquisition. Les signaux sont visualisés sur un oscilloscope et peuvent être entendus grâce à un système audio. Tous les signaux électrophysiologiques dépassant le seuil fixé par l'expérimentateur sont enregistrés et digitalisés sur 32 points couvrant une période de 1ms (fréquence d'échantillonnage du signal : 32000 Hz).

Une caméra RGB, centrée au-dessus de l'arène et reliée à un écran de télévision, détecte la position d'une diode lumineuse (LED) solidaire de la tête de l'animal, grâce à laquelle il est possible de déterminer la position de la tête de l'animal. La position de l'animal est détectée sur une grille de 256 x 256 pixels (8 bits : 2^8), qui est réduite pour l'analyse à une grille de 32 x 32 pixels (5 bits : 2^5) (1 pixel correspond à un carré d'environ 2 cm de côté dans l'environnement).

Sur une même électrode (ou tétrode), il est possible d'enregistrer les potentiels d'action (PA) provenant de différentes cellules. Le système d'acquisition Datawave Discovery (dans la première expérience avec les rats) ou le système d'acquisition SciWorks (dans la deuxième expérience avec les souris) permettent de déterminer, après l'acquisition des données, la provenance de chaque PA à partir de sa forme. La technique de discrimination est basée sur le principe que les PA émis par une même cellule partageront des caractéristiques similaires de forme des potentiels d'action. Chaque PA est défini, au minimum, par huit paramètres de

forme, tels que l'amplitude maximale, l'amplitude de pic à pic, la largeur de pic à pic, etc. Ainsi, chaque PA peut, dans un espace à deux dimensions, être représenté par un point dont les coordonnées sont les valeurs de ces paramètres pris deux à deux. Pour une session d'enregistrement, le système donne donc la représentation, sous forme de nuages de points, de l'ensemble des PA, selon toutes les combinaisons possibles de deux paramètres. Les valeurs-seuils à partir desquelles les PA sont considérés comme appartenant à une même cellule sont ensuite déterminées. Ceci est réalisé pour tous les couples de paramètres disponibles. Enfin, il est possible de visualiser l'ensemble des PA appartenant à différents groupes identifiés afin de vérifier la qualité de la discrimination.

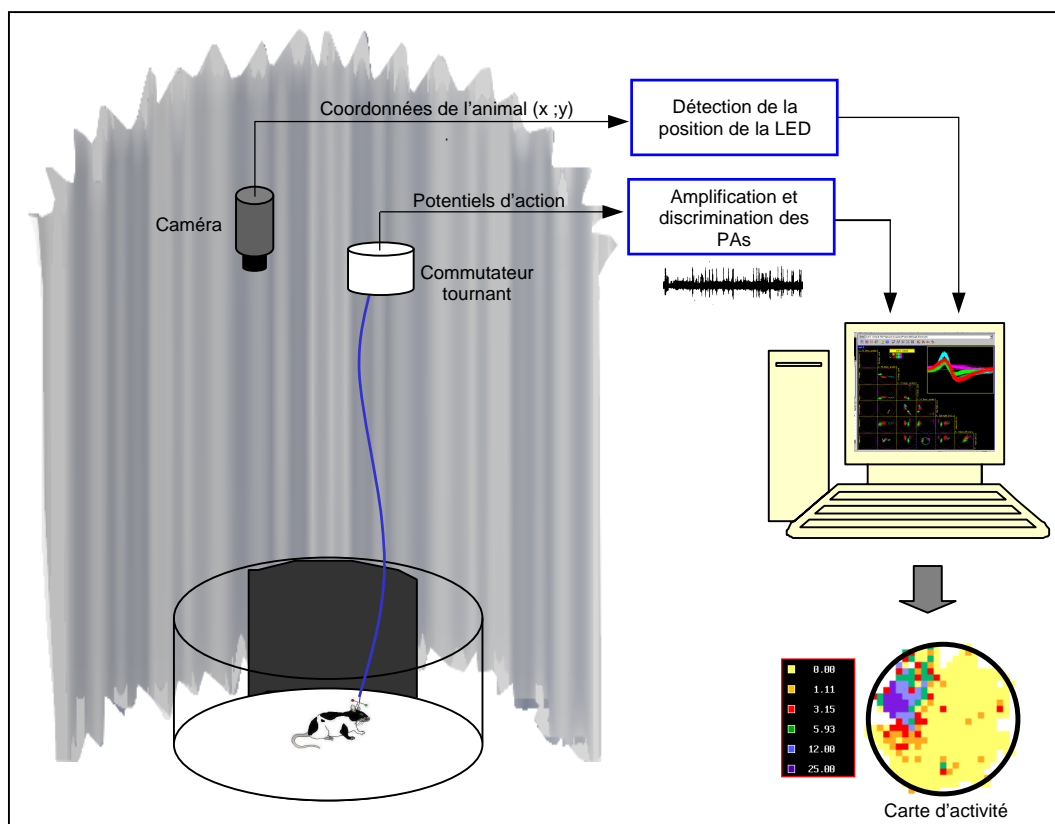


Figure 5.2. Schéma du dispositif d'enregistrement. Un signal positionnel donné par la LED sur la tête de l'animal est capté par une caméra qui enregistre les coordonnées du rat. Les potentiels d'action émis par les cellules de lieu sont amplifiés et isolés du bruit de fond avant d'être digitalisés et stockés dans l'ordinateur. A tout moment, le potentiel d'action émis est mis en relation avec le signal positionnel. Une carte de fréquence d'activité est construite grâce à la combinaison de ces deux informations.

5.6. Analyse des données

Pour élaborer la carte spatiale d'activité de chaque cellule, un programme élabore deux matrices. Une matrice reflète l'activité cellulaire (nombre de PA) en fonction de la position de la tête de l'animal, l'autre matrice reflétant le temps passé par l'animal dans chaque pixel (à chaque fois que l'animal est détecté dans un pixel

donné, l'élément de la matrice lui correspondant est incrémenté d'une unité). Le programme calcule ensuite la fréquence d'activité moyenne en divisant, pixel par pixel, la première matrice par la deuxième. Le résultat final est une carte représentant l'ensemble des pixels visités par l'animal, sur laquelle l'activité unitaire pour chaque position est indiquée par une échelle de couleurs. Un pixel jaune correspond à une fréquence nulle. Puis, suivant l'ordre croissant de la fréquence d'émissions des PA, les couleurs utilisées sont : orange, rouge, vert, bleu et violet (fréquence plus élevée). La relation entre la couleur et la fréquence de décharge est établie de telle sorte que le nombre de pixels dans la catégorie la plus élevée soit 0.8 fois le nombre de pixels dans la catégorie immédiatement en dessous. Un champ d'activité est défini comme étant constitué d'au moins 9 pixels contigus dans lesquels la fréquence d'activité est supérieure à la fréquence moyenne calculée sur l'ensemble de la session. Pour une même cellule, les cartes ainsi établies permettent d'évaluer les caractéristiques du champ d'activité et de les comparer d'une session à la suivante. Il est donc possible de déterminer si le champ d'activité a subi une modification suite à une manipulation expérimentale. On peut évaluer de façon quantitative la stabilité du champ entre deux sessions à partir de la corrélation spatiale entre les deux cartes d'activité. Les deux cartes à comparer sont superposées et corrélées pixel par pixel. On calcule soit le coefficient de corrélation à 0° (coefficient de similarité : R_0), soit le coefficient de corrélation maximal (R_{Max}) qui est calculé en tournant une carte par rapport à une autre de 6° en 6° . L'angle correspondant au R_{Max} permet d'estimer la valeur de la rotation d'un champ d'activité d'une session à une autre. Les tests statistiques sont réalisés sur les données normalisées (Z_0 et Z_{Max}), selon la correction $Z=1/2 \times \ln((1+R)/(1-R))$.

5.7. Caractéristiques numériques

D'autres paramètres quantitatifs sont calculés: 1) Le *taux de décharge intrachamp* est le nombre total de PA émis par la cellule dans son champ d'activité au cours d'une session, divisé par la somme du temps passé par l'animal dans chacun des pixels du champ. 2) Le *contenu informatif* est lié à la quantité d'information spatiale convoyée par les PA émis par une cellule donnée. Par exemple, si une cellule décharge sur toute la surface de l'arène, le contenu informatif est de 0 bit par PA, étant donné que celui-ci ne renferme aucune information sur l'endroit où se trouve l'animal. Si une cellule décharge uniformément sur l'une des deux moitiés de l'arène, le contenu informatif est alors de 1 bit par PA, etc. Donc, plus le champ d'activité spatiale est réduit, avec un pic d'activité contrasté, plus le

contenu informatif est important. Un contenu informatif nul correspond à un champ étendu sur toute la surface de l'arène ; à l'opposé, un contenu informatif élevé correspond à un champ concentré sur une petite portion de l'arène. Il se calcule avec la formule $I = \sum P_i (\lambda_i / \lambda) \times \log_2 (\lambda_i / \lambda)$, où λ_i est le taux de décharge dans le pixel i , λ est le taux de décharge global, et P_i est la probabilité d'occupation du pixel i (Skaggs et al., 1993). 3) La *cohérence spatiale* est un indice de cohésion spatiale de l'activité de la cellule. Si l'activité de la cellule est corrélée de façon parfaitement cohérente avec la position de l'animal, la variation dans la fréquence de décharge lorsque l'on passe d'un pixel aux pixels qui lui sont voisins ne devrait pas être importante, et le taux de décharge dans un pixel donné devrait être hautement corrélé avec celui de ses voisins. La méthode de calcul consiste à corrélérer le taux d'activité de chacun des pixels avec le taux d'activité moyen sur les 8 pixels qui l'entourent. Le coefficient de corrélation qui résulte de ce calcul donne une mesure de la cohérence spatiale de la décharge du neurone. Cette cohérence est d'autant plus grande que le champ présente une fréquence de décharge décroissante au fur et à mesure que l'on s'éloigne de son centre.

5.8. Développement d'un nouveau système d'enregistrement de l'activité neuronale : le « neurologger »

Ce projet est réalisé dans le cadre du PAI (Programme d'Actions Intégrées) Germaine de Staël, dont le soutien financier aide à encourager la collaboration entre notre équipe et celle du professeur Hans-Peter Lipp (Université de Zurich) pour le développement d'un système « autonome » d'enregistrement de signaux électrophysiologiques.

Les propriétés des cellules de lieu en environnement naturel n'ont pas encore pu être dévoilées, principalement à cause des limites imposées par la technique : en effet, l'enregistrement de l'activité des cellules de lieu nécessite la connexion de l'animal à un équipement électrophysiologique par un câble, et la radiotélémétrie ne fonctionne pas sous terre et impose des contraintes de distance entre l'expérimentateur et l'animal.

A l'Université de Zurich, Alexei Vyssotski qui fait partie de l'équipe d'Hans-Peter Lipp, a développé une nouvelle méthode d'enregistrement de l'activité neuronale : le 'neurologger' est un système d'acquisition et de stockage des signaux neurobiologiques, très léger (2 g poids total) et transportable par l'animal. Ce système permet d'examiner l'activité neuronale des rongeurs dans pratiquement tous les types d'environnement, aussi bien dans les laboratoires que dans des environnements plus naturels comme les terriers. Notre équipe possède

une solide expérience dans l'enregistrement des cellules de lieu hippocampiques de rat et de souris, dans des tâches spatiales de laboratoire. C'est la raison pour laquelle nous avons mis en commun nos compétences respectives, ce qui pourra contribuer à améliorer la connaissance des fonctions et des propriétés des cellules de lieu en milieu semi-naturel, mais aussi permettra d'élucider les mécanismes neuronaux à la base de l'apprentissage spatial, de la navigation et de la mémoire. La coopération entre nos deux équipes a déjà permis de commencer à aborder le problème technique, qui mènera ensuite probablement à un projet plus large d'enregistrement de cellules de lieu dans un environnement semi naturel (étude du remapping de l'espace quand l'animal passe d'un petit environnement (arène) à un environnement grande échelle), ou même à un projet d'enregistrement de l'activité neuronale de pigeons voyageurs en vol.

Actuellement, nous en sommes à l'étape d'évaluation de l'applicabilité de la technologie du 'neurologger' à un dispositif expérimental standard que l'on utilise classiquement pour l'étude des cellules de lieu chez le rat ou la souris: une arène carrée ou circulaire dans laquelle l'animal se déplace librement. Le but de cette étape était de vérifier la qualité de l'enregistrement de l'activité neuronale hippocampique chez le rat ou la souris par le neurologger et de la comparer à celle obtenue sur nos systèmes d'acquisition. Cette première étape s'est donc déroulée à Marseille. Les signaux provenant des neurones individuels ont été enregistrés avec succès (figure 5.3) par le neurologger mais n'ont pas encore donné satisfaction pour les signaux EEG (bruits parasitant le signal). Il faut encore améliorer certains paramétrages du neurologger (amplification, bande-passante...) et réaliser des nouveaux tests avant de pouvoir passer à l'étape suivante, c'est à dire avant de pouvoir tester la formation des champs d'activité dans des environnements plus larges. Il reste à développer des méthodes de synchronisation du logger avec une caméra externe à système Infra Rouge, pour l'enregistrement de la position de l'animal. Le neurologger, par la libération de l'animal de toute contrainte physique, permettra d'aborder à terme l'activité des cellules de lieu dans des espaces complexes et de très grande taille, ou encore la dynamique de cette activité à très long terme, ouvrant ainsi la possibilité d'avoir une approche plus écologique de l'étude des propriétés du réseau hippocampique que celle poursuivie actuellement.

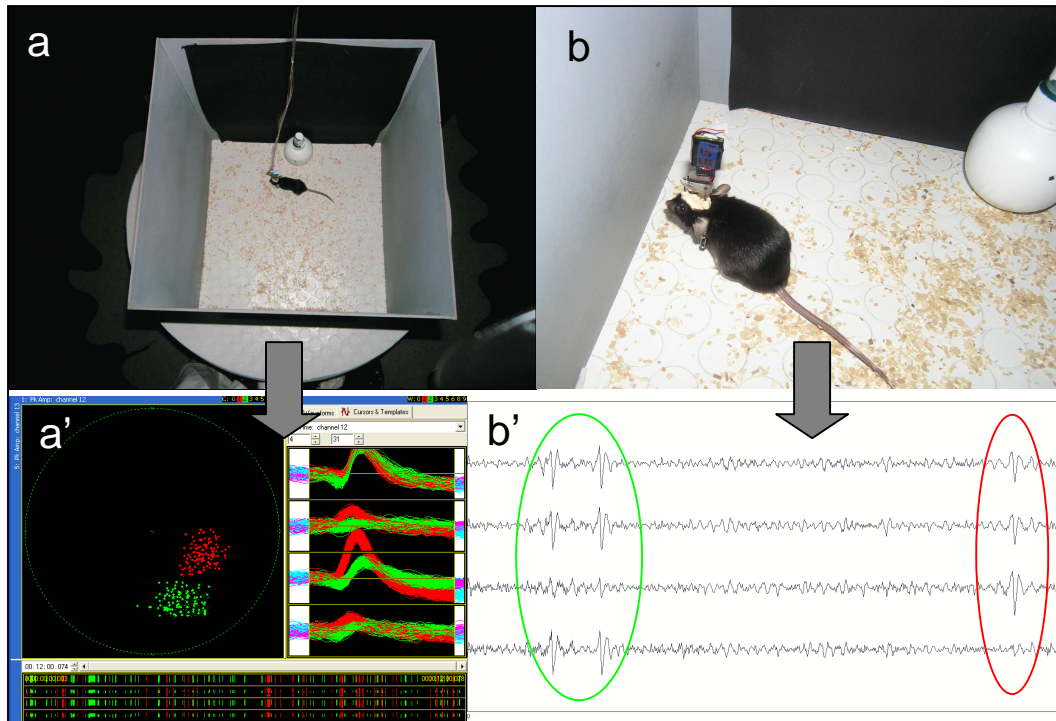
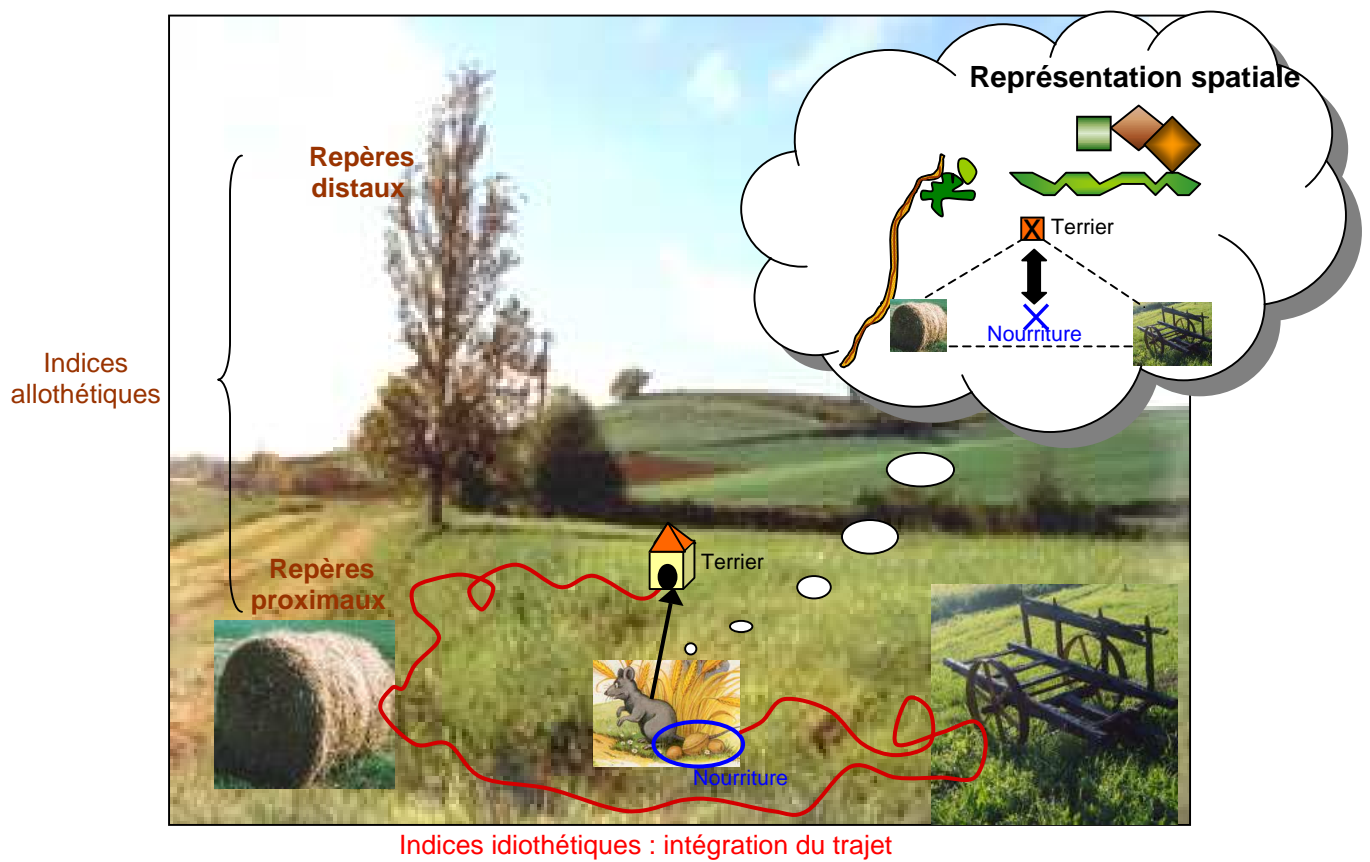


Figure 5.3. Comparaison des signaux unitaires d'un enregistrement réalisé grâce au dispositif d'enregistrement standard (a, a') et d'un enregistrement réalisé par le neurologger (b, b').

a. La souris explore spontanément activement l'environnement, une arène carrée. Ses signaux électrophysiologiques sont transférés via le câble et sont visibles en direct sur l'interface d'acquisition SciWorks. **a'**. Deux cellules (rouge et verte) sont alors visibles et clairement distinctes sur les quatre électrodes de la tétrode. **b.** La figure montre la souris dans le même environnement, mais cette fois-ci équipée du neurologger. Pour l'enregistrement unitaire, le neurologger filtre (300-3000 Hz), amplifie (x 2000) et enregistre l'activité électrique venant des quatre électrodes d'une tétrode avec une fréquence d'échantillonnage de 9600 Hz (inférieure à la fréquence d'échantillonnage de notre système : 32000 Hz). La capacité de mémoire à cette fréquence est d'environ 1 heure. Les données enregistrées dans le neurologger doivent être téléchargées avant de pouvoir être analysées. **b'**. L'amplitude des potentiels d'action dépasse significativement le niveau de bruit. Les différentes amplitudes enregistrées sur chaque électrode de la tétrode montrent que ces potentiels d'action sont générés par des neurones différents : potentiels d'action 1 et 2 chronologiquement (entourés en vert), contre le potentiel d'action 3, (entouré en rouge).

Chapitre 6

Flexibilité des cellules de lieu dans l'utilisation des repères proximaux et distaux (article n°1)



6.1. Introduction

Les animaux utilisent de façon concomitante des indices provenant de l'espace distant et de l'espace proche pour effectuer des tâches spatiales. Bien qu'il soit difficile d'établir de façon rigoureuse ce qui doit être considéré comme relevant de chacune de ces deux sphères d'espace, on peut considérer que les repères proches sont ceux que l'animal peut directement approcher sous différents angles au cours de ses déplacements, tandis que les repères distants sont ceux qui restent hors de portée de l'animal. Cette dichotomie est schématique dans la mesure, où, en conditions naturelles, le déplacement même de l'animal peut l'amener à contacter des repères initialement très éloignés. Cependant, en condition de laboratoire, cette distinction est valide puisque le déplacement de l'animal est généralement limité à une aire restreinte.

Au niveau neuronal aussi, les indices proches et distants influencent l'activité des cellules de lieu (Gothard et al., 1996 ; Shapiro et al., 1997). Notre objectif est de comprendre comment s'effectue l'articulation entre ces différents référentiels (proches et distants) et comment de tels cadres de référence interagissent pour contrôler l'activité des cellules de lieu. Pour cela, nous avons étudié les effets d'une manipulation qui permet de dissocier l'utilisation des repères distants, constituant le référentiel de la pièce d'expérience et des repères proches, constituant le référentiel de l'espace des déplacements de l'animal. Cette manipulation consiste en une double rotation de chaque type d'indice dans le sens contraire. Une telle procédure vise à mesurer l'influence respective de ces deux ensembles d'indices en classifiant les différentes réponses des cellules de lieu. L'hypothèse est que, si les champs d'activité sont sous le contrôle de la configuration globale formée par les indices proximaux et les indices distaux, ils devraient présenter du remapping à la double rotation. En revanche, si les champs sont sous le contrôle soit des indices distaux, soit des indices proximaux, ils devraient opérer une rotation équivalente à celle de l'ensemble d'indices avec lequel ils sont liés. Dans des études utilisant la double rotation de deux ensembles d'indices et enregistrant l'activité des cellules de lieu (Shapiro et al., 1997 ; Tanila et al., 1997 ; Knierim et al., 2002), la majorité des cellules présente un remapping, indiquant que les cellules de lieu encodent de façon privilégiée la configuration formée par les deux ensembles d'indices. Shapiro et al., observent que les cellules qui ne présentent pas de remapping, sont contrôlées en majorité par les indices distaux, alors que peu de cellules sont contrôlées par les indices proximaux. Les auteurs interprètent qu'il existe une hiérarchie dans l'encodage des différents cadres de référence par les cellules de lieu. Shapiro et al. utilisent dans leur expérience un labyrinthe radiaire à quatre bras. Chaque bras est recouvert par un sol qui a une texture et aspect bien particulier. Les motifs au sol représentent les repères proximaux et permettent d'identifier chaque bras. Les indices distaux sont

des cartes avec des motifs différents, accrochées aux rideaux entourant le dispositif. Nous avons considéré dans notre étude la possibilité que cette hiérarchie pourrait être différente si les indices proximaux disponibles sont plus pertinents pour l'animal et que le dispositif représente un environnement dont les caractéristiques sont plus écologiques qu'un labyrinthe en croix. Nous avons donc enregistré l'activité des cellules de lieu chez des rats dans une arène circulaire, qui contient trois objets, dits proximaux, placés à la périphérie de l'arène. L'arène est entourée de rideaux qui permettent de contrôler l'environnement de la pièce, et qui servent de support aux indices visuels distaux. En utilisant la procédure de double rotation, nous avons d'abord examiné quel ensemble d'indices est utilisé majoritairement pour le contrôle des champs d'activité. Ensuite, nous avons procédé au retrait d'un des deux ensembles d'indices (proximal ou distal) afin de déterminer si les cellules de lieu peuvent s'adapter de manière flexible à la dégradation de l'environnement. Des études (O'Keefe et Conway, 1978 ; Quirk et al., 1990 ; Nakasawa et al., 2002) montrent que les cellules de lieu présentent une activité préservée malgré la dégradation de l'entrée sensorielle (i.e., retrait partiel des indices composant l'environnement). Dans notre étude, une telle '*pattern completion*' sera observée si les cellules de lieu présentant un remapping après la double rotation peuvent retrouver leur décharge initiale même après le retrait d'un ensemble d'indices, c'est à dire après que le conflit soit levé.

6.2. Matériels et méthodes

6.2.1. Animaux

Sept rats Long Evans ont été utilisés dans cette expérience. Avant l'implantation des électrodes, les rats sont soumis à un programme de restriction de nourriture (voir matériel et méthodes communs), et entraînés à chercher des granulés de nourriture dans une autre arène que celle utilisée lors des expériences, mais dans la même pièce. Avant l'enregistrement des cellules de lieu, les rats ont tous été familiarisés à l'environnement standard (avec les deux ensembles d'indices) pendant une session de 16 minutes, une fois par jour pendant une semaine.

6.2.2. Dispositif expérimental

Le dispositif est une plate-forme circulaire surélevée de 90 cm de hauteur et de 76 cm de diamètre. Les rideaux pourvus de trois entrées différentes isolent la plate-forme du reste de la pièce. Le bord de la plate-forme se situe à 62.5 cm des rideaux. Les indices proximaux sont trois objets qui diffèrent par la couleur, la taille, la forme et la texture. Ces trois objets sont placés à la périphérie de la plate-

forme et la configuration des trois, forme un triangle isocèle (figure 6.1). Les indices distaux, accrochés aux rideaux, sont trois morceaux de cartons de forme et motif différents. Leur taille a été calculée pour correspondre à l'angle visuel sous-tendu par les objets proximaux lorsque l'animal se trouve au centre de la plateforme. Les trois indices distaux sont aussi disposés entre eux de manière à former une configuration isocèle. La configuration des objets proximaux par rapport aux indices distaux est montrée sur la figure 6.1 (à droite) et représente la configuration standard familière.

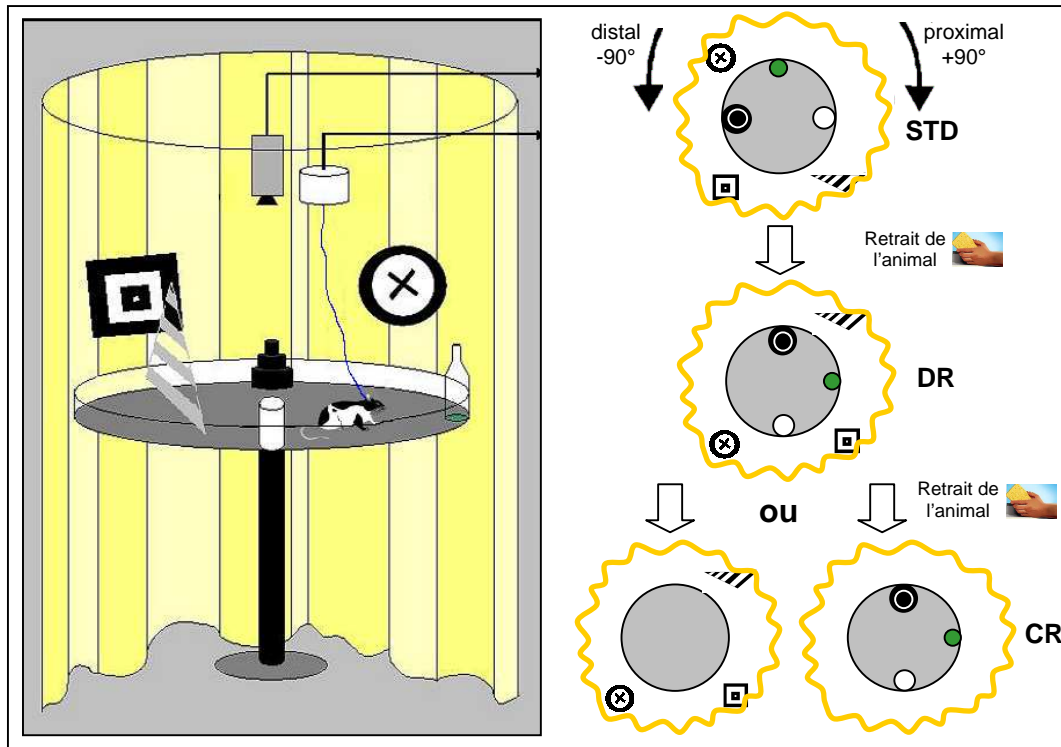


Figure 6.1. Dispositif (à gauche) et protocole expérimental simplifié (à droite). Une fois qu'une cellule (ou plusieurs) est trouvée, les rats sont soumis à deux sessions standard (STD1 et STD2 non représentée), puis à la session de **double rotation (DR)**. Une session de **retrait (CR)** des objets proximaux ou des indices distaux est parfois réalisée. Une dernière session standard (STD 3, non représentée) est réalisée pour s'assurer de la stabilité des signaux.

6.2.3. Méthodes d'enregistrement

Dix jours après la chirurgie, et une semaine après l'entraînement à la configuration standard, l'activité de chaque électrode est examinée pendant que l'animal est à la recherche de granulés de nourriture tombant aléatoirement sur le sol de la plateforme, dans l'environnement standard. Les rats n'ont jamais été exposés à la double rotation ni à la session de retrait d'indices avant l'enregistrement des cellules. Pendant plusieurs semaines, les électrodes sont descendues, à la recherche de potentiel d'action avec une amplitude suffisamment importante ($>100 \mu V$, i.e., environ 3 fois le bruit de fond).

6.2.4. Protocole expérimental

Dès qu'une cellule est détectée, les rats sont soumis à une séquence de quatre sessions successives de 16 minutes chacune : (1) STD1, session standard 1, (2) STD 2, session standard 2, (3) DR, double rotation, (4) STD 3, session standard 3. Toutes les sessions standards sont réalisées avec les indices proximaux et distaux agencés comme sur la figure 6.1. La STD1 permet d'identifier la localisation des champs d'activité, la STD2 a pour but de vérifier la stabilité des champs en conditions environnementales stables et la STD3 permet de vérifier la stabilité de l'enregistrement au cours des sessions.

Entre les sessions, le rat est déconnecté, retiré de la plate-forme et placé dans sa cage. Le sol de la plate-forme est nettoyé pour neutraliser les indices olfactifs.

Double rotation (DR)

Dans la session de double rotation, l'ensemble des objets proximaux subit une rotation de 90° dans le sens horaire (CW ClockWise) et l'ensemble des indices distaux subit une rotation de 90° dans le sens anti-horaire (CCW Counter ClockWise), ce qui conduit à un conflit de 180°. A l'intérieur d'un même ensemble d'indices (proximal ou distal), la relation spatiale entre les objets est conservée. La procédure de double rotation nous a permis d'établir quel ensemble d'indices contrôle la position des champs d'activité.

Retrait d'indices (CR, Cue Removal)

Pour mesurer la flexibilité d'un tel contrôle, une session de retrait d'indices, dans laquelle soit les repères proximaux, soit les distaux sont retirés, est effectuée juste après la double rotation. Cette session de retrait d'indices (réalisée occasionnellement pour minimiser l'apprentissage de cette manipulation), permet de soulever deux questions : d'abord, les champs d'activité contrôlés par les indices proximaux à la session de double rotation peuvent-ils être contrôlés par les indices distaux, si les indices proximaux sont retirés? Ensuite, les cellules qui présentent un remapping à la double rotation peuvent-elles retrouver leur décharge initiale une fois que le conflit est levé, c'est à dire une fois qu'un des ensembles d'indices est retiré dans la session de retrait. Grâce à cette session de retrait, il est possible d'évaluer la flexibilité du système des cellules de lieu à compenser ou pas le retrait d'une partie de l'information.

6.3. Analyse des données

Pour estimer numériquement le changement de position du champ d'activité résultant des manipulations d'indices, des corrélations spatiales sont réalisées entre des paires de cartes d'activité (STD1 vs. STD2, STD2 vs. DR, DR vs. CR).

A la session de double rotation (DR), un R_{Max} correspondant à une rotation de $90 \pm 22.5^\circ$ (sens horaire), indique que le champ d'activité a été contrôlé par les indices proximaux. Un R_{Max} correspondant à une rotation de $-90 \pm 22.5^\circ$ (sens anti-horaire), indique que le champ d'activité a été contrôlé par les indices distaux.

Pour la session de retrait des indices (CR), nous nous sommes demandé si les cellules de lieu sont capables d'ancrer leur décharge sur les indices restants. Pour cela, nous avons d'abord calculé la corrélation entre les cartes de fréquence des sessions DR et CR afin d'estimer la similarité entre les deux cartes (Paz-Villagran et al., 2002). Des scores élevés de corrélation indiquent que les champs restent stables par rapport la session DR, alors que des scores faibles de corrélation indiquent que les champs ont changé de position ou ont disparu (remapping). Pour les cellules qui ont toujours un champ d'activité en CR, nous avons recherché entre STD2 et CR, l'angle qui correspond au score de similarité le plus élevé (R_{Max}). Les champs d'activité toujours contrôlés par les indices proximaux ou distaux en CR auront un R_{Max} pour $+90^\circ$ et -90° respectivement.

6.4. Résultats

Contrôle des champs par les objets proximaux ou par les indices distaux ?

Les résultats se basent sur l'analyse de 129 cellules de lieu enregistrées chez 7 rats, au cours de 65 séquences de quatre sessions. Quatre-vingt quatorze cellules (73%) ont été enregistrées dans CA1 et 35 (27%) ont été enregistrées dans CA3.

Les propriétés de décharge des champs d'activité dans CA1 et CA3 ne montrent aucune différence significative (taux de décharge: CA1: 0.79 Hz, CA3: 0.56 Hz, $t(127) = 1.57$, $P > 0.05$; contenu informatif: CA1: 1.43, CA3: 1.57, $t(127) = -0.98$, $P > 0.05$; cohérence spatiale: CA1: 0.67, CA3: 0.67, $t(127) = -0.14$, $P > 0.05$). De plus, les cellules de CA1 et de CA3 montrent des réponses identiques à la double rotation (article 1, Renaudineau et al., 2007 pour les détails). C'est pourquoi les deux populations de cellules ont été regroupées pour l'analyse de la distribution des angles de rotation des champs en réponse à la session DR et CR.

Dans la session de double rotation DR, l'ensemble des objets proximaux est tourné de 90° dans le sens horaire, et l'ensemble des indices distaux est tourné à 90° dans le sens anti-horaire. Toutes les cellules n'ont pas maintenu leur activité à la double rotation : 26 (20%) cellules se sont en effet arrêtées de décharger entre STD2 et DR. De plus, 7 cellules qui étaient silencieuses en STD2 se sont mises à décharger en DR. Ces réponses sont caractéristiques d'un remapping. L'analyse des angles de rotation des champs d'activité a donc été réalisée pour les cellules qui ont un champ à la fois dans la session STD2 et la session DR ($n = 96$ cellules), ce qui exclue les 26 cellules disparues et les 7 cellules apparues. La figure 6.2A montre la distribution des angles de rotation en conditions stables, entre STD1 et STD2, et après la double rotation, entre STD2 et DR. La première distribution montre qu'en conditions stables, les angles de rotation sont tous concentrés autour de 0°, ce qui indique que les cellules de lieu ont des champs d'activité stables. Un test V adapté aux données circulaires confirme que les angles sont concentrés autour de 0° ($u = 13.77$; $P < 0.001$). Entre STD2 et DR, les angles de rotation sont distribués de façon plutôt trimodale. Un sous-ensemble de champs d'activité est contrôlé par les objets proximaux, un autre par les indices distaux, et un autre reste stable. La distribution n'est pas homogène comme le confirme le test de Watson U^2 ($n = 96$; $U^2 = 0.496$; $P < 0.01$).

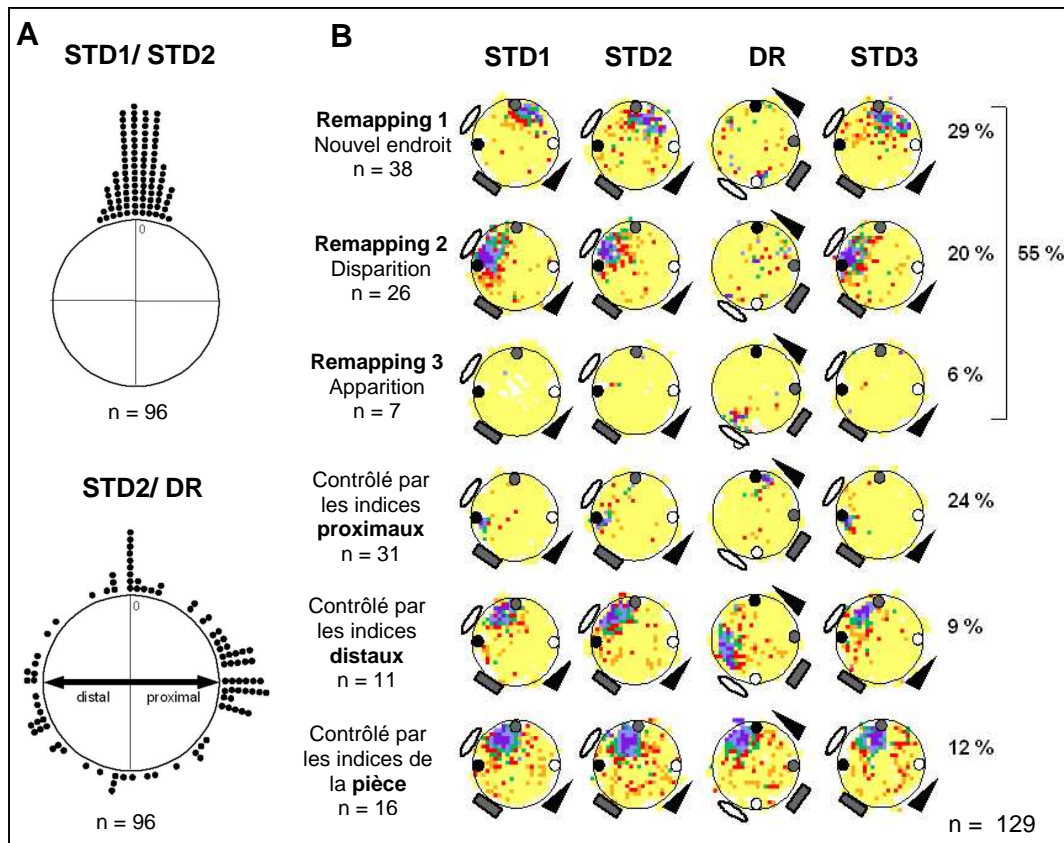


Figure 6.2. Contrôle des champs d'activité par les différents indices. A. Distribution des angles de rotation correspondant au R_{Max} entre STD1 et STD2 (en haut), montrant une stabilité des champs d'activité. En bas, distribution des angles de rotation correspondant au R_{Max} entre STD2 et DR (Double Rotation) montrant une distribution trimodale. B. Exemples de cartes d'activité représentatifs des types de réponses observés à la Double Rotation.

Il est important de souligner qu'un certain nombre de cellules n'est contrôlé ni par les indices proximaux, ni par les indices distaux, ni par les indices de la pièce. Il est difficile de savoir si les champs sont liés ou pas à un ensemble d'indices car les angles de rotation sont distribués tout au long d'un continuum. Cependant on considère qu'il y a remapping, si une cellule présente au moins un des critères suivants : (1) le champ d'activité s'est déplacé à un endroit qui ne peut pas être prédit par les indices non contrôlés de la pièce (faible corrélation à 0°), ni par les indices distaux (faible corrélation à -90°), ni par les indices proximaux (faible corrélation à $+90^\circ$), et/ou (2) modification importante de la fréquence de décharge du champ (fréquence, taille). Cette catégorie remapping comprend donc 38 cellules dont le champ s'est déplacé à un endroit imprévisible. La figure 6.3 montre la distribution des angles de rotation de ces cellules. Le test de Watson U^2 confirme que les angles sont distribués uniformément dans l'environnement ($n = 38$; $U^2 = 0.124$; $P > 0.05$). Notons que ces cellules présentent un R_{Max} plus faible que pour les autres catégories de réponses, proximal, distal et non contrôlés (remapping vs. proximal: $t(67) = -4.39$; $P < 0.001$; remapping vs. distal: $t(44) =$

2.82; $P < 0.01$; remapping vs. indices de la pièce: $t(49) = 4.38$; $P < 0.001$). En particulier, les corrélations correspondant à -90° (distal), $+90^\circ$ (proximal) et 0° (pièce) sont très faibles (-0.01 ± 0.01 , 0.01 ± 0.01 , et 0.0 ± 0.02 , respectivement).

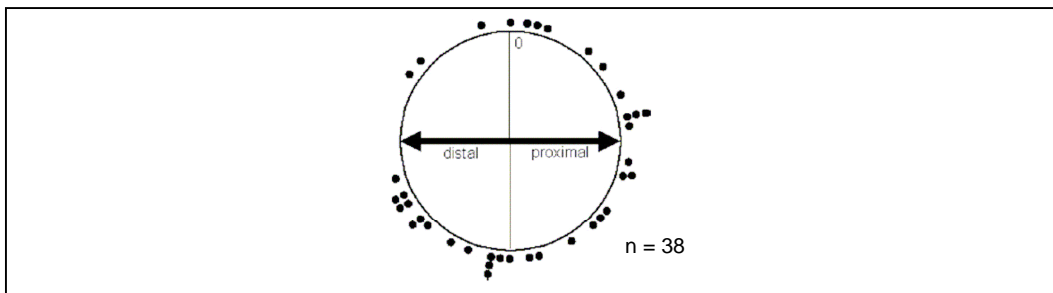


Figure 6.3. Distribution circulaire des angles de rotation des champs qui changent d'endroit de manière imprédictible, c'est à dire qui ne sont ni contrôlés par les indices distaux, ni par les indices proximaux, ni par les indices de la pièce.

La figure 6.2B montre des exemples significatifs de séquences de sessions dans les quatre catégories observées: (1) Champs contrôlés par les indices proximaux ; (2) Champs contrôlés par les indices distaux ; (3) Champs contrôlés par les indices de la pièce ; (4) Champs qui présentent un remapping. Cette dernière catégorie comprend les cellules dont les champs changent d'endroit de façon imprédictible, les cellules qui cessent de décharger et les cellules qui se mettent à décharger à la session de DR.

Globalement, les résultats indiquent qu'une large proportion de cellules (71/129, 55%) présente un remapping, ce qui suggère que leur activité est contrôlée par la configuration formée par l'ensemble des objets proximaux et des indices distaux. Moins fréquemment, les cellules sont contrôlées par les objets proximaux (31/129, 24%) et plus rarement par les indices distaux (11/129, 9%). Pour finir, un nombre substantiel de cellules maintient leur champ stable, suggérant un contrôle par les indices non contrôlés du reste de la pièce (16/129, 12%).

Influence des objets proximaux sur la distribution spatiale des champs d'activité

Cinquante-six cellules sur 122 (46%) ont un champ d'activité qui touche un objet en condition standard (les 7 champs qui sont apparus en DR n'ont pas pu être comptabilisés), ce qui montre qu'il n'y a pas de biais spatial dans la distribution des champs. La place des champs par rapport aux objets en session standard (champs touchant ou non les objets) n'influence pas la proportion de remapping en DR (55% et 50% de remapping pour les champs qui touchent les objets ou non, respectivement). Nous avons ensuite montré que les cellules dont les champs sont proches des objets sont plus contrôlées par les objets proximaux que par les objets

distaux (90% des champs proches sont contrôlés par les objets proximaux, $\chi^2 (1) = 5.04$, $P < 0.05$).

Cohérence des réponses des cellules de lieu

Les enregistrements de plusieurs cellules simultanément mettent en évidence une hétérogénéité des réponses à la double rotation. Parmi les 65 séquences, 33 contiennent au moins 2 cellules enregistrées simultanément (2.8 cellules par séquence en moyenne). Parmi ces 33 séquences, 18 (55%) séquences contiennent des cellules qui montrent des réponses hétérogènes. La figure 6.4 montre les cartes d'activité de la séquence contenant le plus de cellules enregistrées simultanément : certaines cellules sont contrôlées par les objets proximaux, d'autres par les indices distaux alors que d'autres encore présentent un remapping. Ces résultats sont cohérents avec d'autres études qui avaient montré qu'à l'intérieur d'une même séquence, les différentes cellules peuvent être contrôlées par différents types d'indices (Shapiro et al., 1997 ; Tanila et al., 1997 ; Knierim et al., 2002)

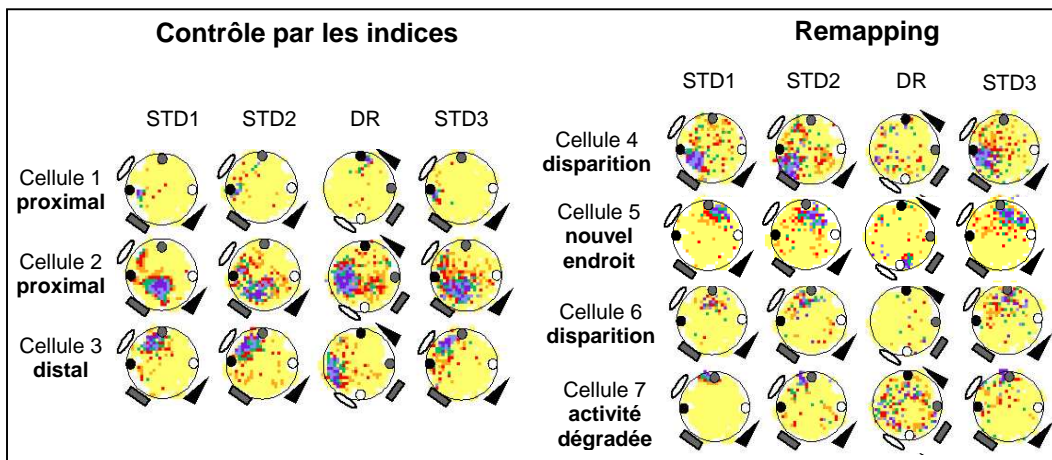


Figure 6.4. Ensemble de cellules enregistrées simultanément, illustrant que les cellules peuvent présenter des réponses hétérogènes à la session de DR. Des cellules sont contrôlées par les objets proximaux, d'autres par les indices distaux, et d'autres présentent un remapping.

Réponses des cellules de lieu des champs CA1 et CA3

Comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, nous n'avons pas trouvé de différence dans les réponses des cellules enregistrées dans CA1 et dans CA3 lors de la session de double rotation. Des proportions identiques de remapping entre CA1 et CA3 ont été trouvées. Les proportions de cellules contrôlées par les indices proximaux et distaux ne sont pas non plus différentes dans les deux régions (**article 1**). Il est néanmoins nécessaire de préciser que les cellules de CA3

ont été enregistrées après celles de CA1, laissant la possibilité que les effets dépendant de l'apprentissage biaisent la comparaison entre les deux types de cellules. Cependant, nous avons montré que le remapping n'augmentait pas en fonction de l'expérience de l'animal à la double rotation, ce qui suggère que les réponses des cellules de lieu ne dépendent pas de cette expérience. Le résultat aurait donc probablement été identique si on avait enregistré d'abord dans CA3 puis dans CA1, c'est-à-dire qu'il n'y aurait pas eu non plus de différence entre CA1 et CA3 pour chaque type de réponse.

Effet du retrait d'un ensemble d'indices (session CR)

Sur 65 séquences, nous avons réalisé 25 séquences (CR) avec le retrait d'un ensemble d'indices (proximaux ou distaux) après la session de double rotation (DR). L'effet du retrait d'indices a été examiné sur 38 cellules de lieu. Dix-neuf cellules ont un champ à la fois dans la session DR et la session CR. Parmi ces cellules, 14 ont des champs d'activité stables entre ces deux sessions (figure 6.6 exemple a). Parmi les 24 cellules restantes pour lesquelles les champs sont instables entre la session DR et la session CR :

- il y a 12 cellules qui ont un champ en CR, dont 5 cellules avec des champs qui changent d'endroit de la session DR à la session CR et 7 cellules qui ne déchargeaient pas en DR et qui se sont mises à décharger en CR (figure 6.6 exemples e et d)

- il y a 12 cellules qui n'ont pas de champ en CR, dont 8 cellules qui déchargeaient en DR et s'arrêtent en CR et 4 cellules qui ont arrêté de décharger en DR et continuent d'être silencieuses en CR (figure 6.6 exemples b, c, et f). L'examen visuel des cartes d'activité des 12 cellules qui ont un champ en CR, suggère que les champs d'activité sont contrôlés par les indices restants. Pour étayer cette observation, nous avons analysé la distribution circulaire de ces angles de rotation correspondant à la corrélation maximale (R_{Max}) entre les cartes d'activité de STD2 et de CR (figure 6.5) pour ces 12 cellules. Nous avons trouvé 6 cellules dont l'angle de rotation correspond au contrôle par les objets proximaux ou par les indices distaux. L'exemple d de la figure 6.6 en fait partie. Cette cellule qui s'arrête de décharger à la session DR, montre un champ en CR qui semble être lié aux objets proximaux, comme si sa décharge avait été initialement contrôlée par les objets. Donc, globalement, 20/38 (53%) cellules (14 cellules + 6 cellules) ont des champs contrôlés par les indices restants (non contrôlés et contrôlés) lors de la session CR.

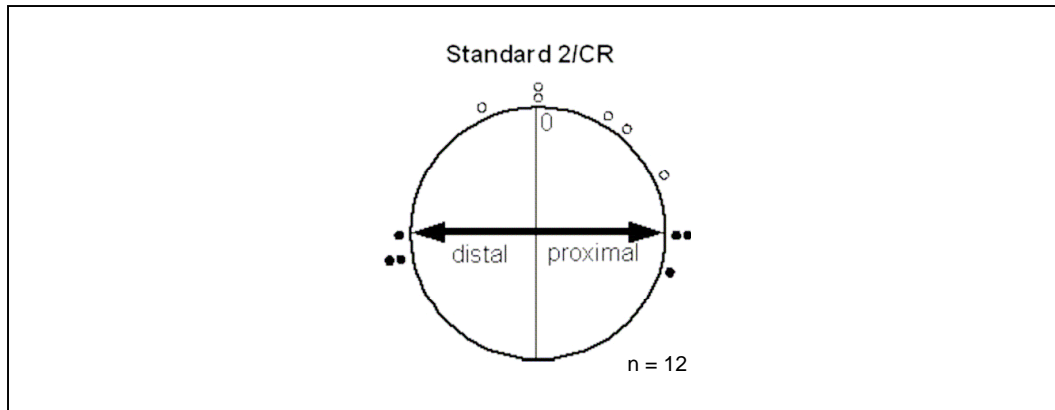


Figure 6.5. Distribution circulaire des angles de rotation correspondant au R_{Max} entre les cartes d'activité de STD2 et CR.

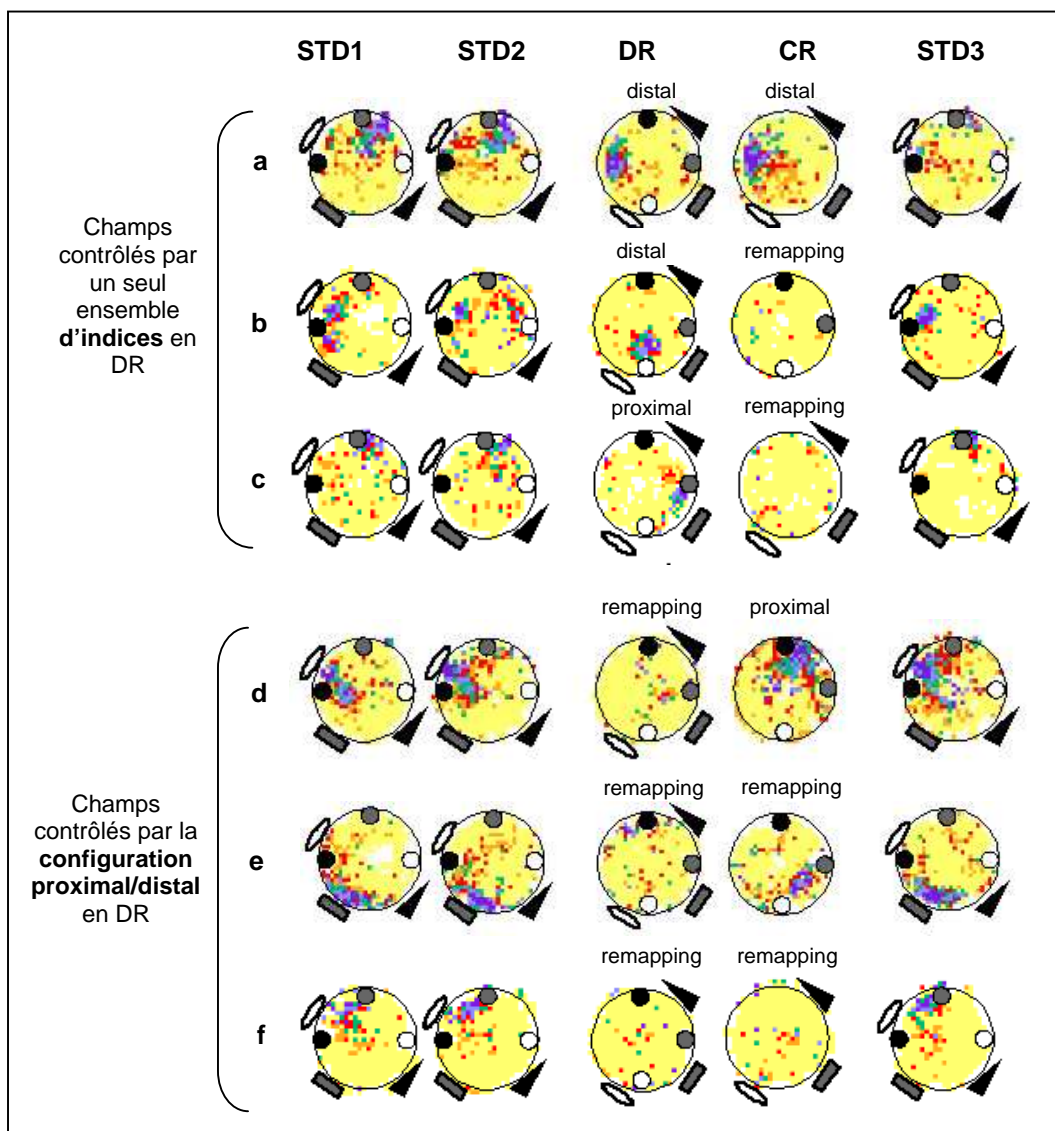


Figure 6.6. Exemples de séquences d'enregistrements incluant le retrait d'un des deux ensembles d'indices (CR) après la double rotation (DR).

Nous avons ensuite examiné dans quelle mesure la réponse des cellules de lieu à la session CR de retrait pouvait dépendre de leur réponse à la double rotation réalisée juste avant. Lorsque le champ d'activité était contrôlé par un des ensembles d'indices (proximal ou distal) en DR, nous avons retiré en CR l'ensemble d'indices qui contrôlait le champ en DR (ensemble d'indices contrôlant). Lorsque le champ était contrôlé par la configuration d'ensemble des indices proximaux et distaux, c'est-à-dire les champs présentant un remapping en DR, nous avons retiré en CR aléatoirement les indices distaux ou les proximaux. Comme le montre le tableau 6.7, la plupart des cellules qui présente du remapping en DR, a un champ contrôlé par les indices restants en CR (16/24). En revanche, pour les cellules qui ont un champ contrôlé par un des ensembles d'indices en DR, la grande majorité (9/10) n'est pas contrôlée par les indices restants en CR ($\chi^2(1) = 6.94$, $P < 0.01$). Seulement 1 cellule sur 10 contrôlée par un ensemble d'indices en DR, a vu son champ basculer sur l'autre ensemble d'indices restants en CR. Nous avons aussi enregistré 4 cellules « contrôle » pour lesquelles les indices non-contrôlant ont été retirés en CR et nous avons trouvé que les champs ont tous maintenu leur activité stable par rapport aux indices restants.

Double rotation (n = 34)	Retrait d'indices CR	
	Champs contrôlés par les indices restants	Champs non contrôlés par les indices restants
Remapping	16	8
Champs contrôlés par les indices proximaux ou distaux	1	9

Tableau 6.7. Nombre de cellules contrôlées ou non contrôlées par les indices restants après le retrait d'indices (CR), en fonction de leur 'comportement' à la session de double rotation (DR).

En résumé, les cellules qui étaient apparemment contrôlées par la configuration formée par les indices proximaux et distaux (c'est-à-dire qui présentent du remapping en DR), restent quand même assez flexibles, car elles sont toujours capables d'utiliser l'autre ensemble d'indices pour ancrer leur décharge en CR. Une telle flexibilité n'a cependant pas pu être observée en CR pour les cellules qui étaient contrôlées par un ensemble spécifique d'indices en DR. Ces résultats suggèrent que les cellules de lieu ne présentent pas toutes la même aptitude à produire une réponse adaptée aux changements de l'environnement.

6.5. Discussion

Le but de cette étude était de comprendre l'interaction entre les objets proximaux et les indices distaux dans le contrôle de l'activité des cellules de lieu. Plus spécifiquement, nous avons étudié la flexibilité des cellules de lieu en réponse à une manipulation d'indices, qui mène soit à une information discordante (rotation des indices proximaux et distaux dans des directions opposées), soit à une information incomplète (retrait d'un ensemble d'indices). Dans cette étude, nous avons montré que les cellules de lieu s'appuient d'abord sur la configuration formée par les indices proximaux et les indices distaux pour ancrer leur champs d'activité. Moins fréquemment, les cellules de lieu se servent d'un seul ensemble d'indices, surtout des objets proximaux, et moins des indices distaux. En outre, le retrait d'une partie des indices induit au niveau de la population de cellules autant de remapping que de contrôle par les indices restants. De manière intéressante, les cellules présentant du remapping à la session de double rotation ont une plus grande capacité à utiliser l'ensemble d'indices restant que les cellules qui étaient contrôlées par un seul type d'indice.

Utilisation hiérarchique des indices proximaux et distaux (DR)

Des études se sont attachées à comprendre l'influence relative des indices proximaux et distaux dans le contrôle des cellules de lieu (Shapiro et al., 1997 ; Knierim et al., 2002 ; Knierim et Rao, 2003). Notamment, Shapiro et al., qui utilisent des indices proximaux au sol à la place des objets, montrent qu'une majorité de cellules de lieu est influencée par la configuration des indices (i.e. la double rotation induit un remapping), et que les autres neurones peuvent être sélectivement contrôlés par un seul ensemble d'indices, avec les indices distaux qui exercent un contrôle plus important que les indices proximaux. Savoir si la hiérarchie « configuration > distal > proximal » qu'ils ont décrite est une propriété intrinsèque du système ou si au contraire, elle peut être modulée par des facteurs extrinsèques comme la nature des indices disponibles, est une question fondamentale.

Nous savons grâce à des études que les objets placés dans l'environnement proximal de l'animal influencent la décharge des cellules de lieu (Gothard et al., 1996 ; Cressant et al., 1997, 1999 ; Save et al., 1998 ; Lenck-Santini et al., 2005) et la navigation (Save et Poucet, 2000 ; Oswald et al., 2003 ; Parron et al., 2004). Nous avons donc évalué la possibilité que ces objets pourraient plus influencer la réponse des cellules de lieu que les indices distaux.

Nous avons trouvé comme Shapiro et al., que la majorité des cellules de lieu était contrôlée par la configuration des indices (55%). En revanche, nous avons mis en évidence une nouvelle hiérarchie puisque les champs restants ont été plus souvent contrôlés par les objets proximaux (24%) que par les distaux (9%).

Notre résultat semble aller à l'encontre de l'hypothèse selon laquelle les informations provenant de l'espace distant seraient utilisées préférentiellement aux informations provenant de l'espace plus proche pour le contrôle des comportements de navigation (Morris, 1981 ; Benhamou et Poucet, 1998 ; Collett et al., 1986 ; Teroni et al., 1987 ; Gothard et al., 1996 ; Save et Poucet, 2000) mais aussi pour l'ancrage angulaire de l'activité des cellules de lieu, tout comme celui des cellules de direction de la tête (Muller et Kubie, 1987 ; O'Keefe et Speakman, 1987 ; Cressant et al., 1997 ; Zugaro et al., 2001). Une explication de cette prévalence des indices distaux tient au fait que, pour construire une représentation de la configuration de repères distants, l'animal ne doit pas tenir compte des effets de parallaxe comme pour les repères proches. En effet, l'apparence des repères proches peut être modifiée sensiblement au cours des déplacements. L'animal doit être capable de mettre en relation ces différentes apparences, probablement en combinant les informations sensorielles externes et les informations générées par son propre déplacement. Les apprentissages spatiaux reposant sur des repères proches seraient plus difficiles en raison de la nécessité de recourir à ces processus de combinaison qui réclament un traitement supplémentaire. Cependant, cette conclusion repose sur l'utilisation d'environnements simplifiés, et il est possible que la situation soit différente dans des environnements plus complexes et notamment avec des objets proximaux tridimensionnels. D'une part, les objets utilisés dans notre expérience pourraient fournir des repères directionnels non négligeables car ils sont situés à la périphérie de l'arène (Cressant et al., 1997). D'autre part, les repères proches ont l'avantage de permettre une meilleure discrimination spatiale en fournissant à l'animal des informations positionnelles précises. La conjonction des informations positionnelles et directionnelles pourrait suffire à expliquer la prévalence des objets par rapport aux indices distaux dans le contrôle des cellules de lieu, ces derniers n'offrant qu'une information de type directionnel.

En outre, il faut noter que même si les objets influencent fortement les champs d'activité, les indices distaux ne sont pas pour autant négligés par le système. Premièrement, un nombre de cellules est uniquement influencé par les indices distaux. Deuxièmement, de nombreuses cellules sont influencées par la combinaison des deux ensembles d'indices. Troisièmement, les cellules contrôlées par les objets proximaux montrent une diminution de la fréquence de décharge, ce

qui suggère qu'elles sont sensibles à l'incohérence engendrée par le conflit entre les deux ensembles d'indices (**article 1**, Renaudineau et al., 2007).

En résumé, nos résultats montrent une autre hiérarchie de réponse que celle décrite par Shapiro et al. (1997). Cela suggère que le système des cellules de lieu peut montrer des réponses différentes en fonction de la nature des indices utilisés. Une conséquence théorique importante de ces résultats est que la représentation hiérarchique des indices faisant partie de différents cadres de référence et donc la force relative de ces cadres ne sont pas préétablies, mais flexibles et dépendent de la nature des indices disponibles et vraisemblablement de la tâche. Cette conclusion est cohérente avec les résultats de Knierim, suggérant une influence de l'expérience du rat sur la hiérarchie de la réponse (Knierim, 2002).

Retrait d'indices : *pattern completion* vs. *pattern separation* (CR)

La session de retrait a été réalisée pour comprendre comment le système répond à une déletion partielle mais substantielle, des indices de l'environnement. Dans le cadre du modèle des réseaux attracteurs (voir partie 7.2), le retrait d'un indice pourrait activer deux processus dans l'hippocampe : la *pattern completion* et la *pattern separation* (Leutgeb et al., 2005b). La *pattern completion* réfère à la capacité d'un réseau à se rappeler une représentation mémorisée malgré les entrées dégradées, c'est-à-dire malgré les modifications de l'environnement. La *pattern separation* permet au contraire de générer deux représentations différentes de deux entrées similaires (Mizumori et al., 1989 ; McClelland et Goddard, 1996 ; Guzowski et al., 2004). Des études récentes ont montré que les cellules de lieu présentent des propriétés de *pattern completion* et *separation* (Guzowski et al., 2004 ; Leutgeb et al., 2005a ; Wills et al., 2005). Dans notre étude, les champs qui sont contrôlés par les indices restants reflèteraient les processus de *pattern completion*, alors que les champs qui présentent du remapping reflèteraient plutôt la *pattern separation*.

Pour chaque modification de l'environnement, nous avons trouvé dans notre étude une proportion pratiquement équivalente de *pattern completion* et de *pattern separation*, que ce soit lors du conflit (en DR, 55% de remapping et 45% de champs contrôlés par les indices, comprenant les indices distaux, les proximaux ou par les indices non contrôlés de la pièce) ou que ce soit lors de la session de retrait (CR). Lors du retrait d'indices, la moitié des champs est contrôlée par les indices restants (17/34, 50%), et l'autre moitié présente du remapping (17/34, 50%). Parmi les champs contrôlés par les indices restants, la plupart reste stable

par rapport à la session précédente DR et une plus petite partie revenait à la position définie par le cadre de référence initiale (session standard). Les modifications de l'environnement que nous avons réalisées semblent donc mener à un équilibre entre les processus de *pattern completion* / *separation*. La double rotation, tout comme le retrait d'indices, engendre deux réponses contradictoires au niveau de la population des cellules de lieu, c'est-à-dire une activation d'une représentation existante et une formation d'une nouvelle représentation. La *pattern completion* ne prédomine pas, ce qui suggère que le conflit et le retrait mènent tous les deux à un environnement ambigu, dont l'identité est incertaine pour l'animal. Les réponses observées sont donc le reflet d'une compétition entre les processus de *pattern completion* et *separation*.

De façon intéressante, le fait que certaines cellules réalisent la *pattern completion*, et d'autres, la *pattern separation* après le retrait d'indices, peut être prédit sur la base de leur réponse à la double rotation. Les cellules qui font la *pattern completion* après le retrait sont en majorité celles qui avaient présenté du remapping en DR. Au contraire, les cellules qui présentent la *pattern separation* après le retrait sont principalement celles qui avaient suivi un des ensembles d'indices. Une hypothèse est que les cellules qui répondraient à la combinaison des cadres de références sont aussi capables d'utiliser un seul cadre pour restaurer la représentation mémorisée quand c'est nécessaire (*pattern completion*). Au contraire, les cellules qui utilisent un seul cadre de référence seraient moins flexibles, puisqu'en cas de retrait de ce cadre, elles ne seraient plus capables d'utiliser l'autre cadre de référence toujours disponible.

Dans cette expérience, l'hétérogénéité des réponses des cellules de lieu (individuelles et en assemblée) ne semble pas obéir aux prédictions du modèle de réseau attracteur (Guzowski et al., 2004). Ce modèle prédit en effet une transition brutale entre la *pattern separation* et la *pattern completion* lorsque l'environnement est modifié et par conséquent implique que les cellules présentent soit une majorité de *pattern completion*, soit une majorité de *pattern separation*. Ce modèle implique aussi qu'une assemblée de cellules répond de façon cohérente à une modification environnementale (Wills et al., 2005). Dans notre expérience, l'équilibre entre la *pattern completion* et la *pattern separation* et l'hétérogénéité des réponses d'une assemblée de cellules enregistrées simultanément face aux modifications environnementales (DR et CR) semblent donc refléter l'influence d'autres processus. Une possibilité est que les cellules peuvent répondre individuellement aux indices environnementaux (Shapiro et al., 1997 ; Knierim, 2002). La façon dont une cellule peut traiter les indices à l'échelle

individuelle et son impact potentiel sur l'activité à l'échelle de la population de cellules est une question encore débattue (Jeffery et al., 2004).

Pour résumer, nos résultats montrent que le système des cellules de lieu est un système opportuniste, puisque les cellules sont capables d'ancrer leur décharge sur les indices disponibles et de s'adapter de manière flexible aux changements environnementaux. La notion de l'utilisation hiérarchique des différents cadres de références requiert encore de nouvelles études. Une possibilité est qu'il existe une hiérarchie fondamentale, issue de processus évolutifs, qui implique une utilisation préférentielle des indices distaux sur les indices proximaux pour la navigation. Une autre possibilité, plus plausible face à nos résultats, est que la hiérarchie dépendrait essentiellement de l'apprentissage. Dans cette hypothèse, il n'y pas de hiérarchie pré-établie, mais le système serait capable d'utiliser n'importe quel type d'indices pour ancrer l'activité des cellules de lieu, à partir du moment où l'animal aura été préalablement entraîné à ces types d'indices.

Nos résultats sont cohérents avec l'idée que la flexibilité du système des cellules de lieu résulte d'une interaction entre les propriétés du réseau attracteur basé sur les modifications des poids synaptiques et les propriétés individuelles des cellules. Comme le suggère Knierim (2002), le circuit attracteur devrait être important pour la formation initiale et la stabilisation progressive de la représentation spatiale. Les cellules, à l'échelle individuelle, seraient plutôt impliquées dans des mécanismes qui nécessitent une adaptation rapide aux modifications environnementales. Il reste à déterminer comment ces deux aspects de la flexibilité hippocampique sont reliés et intégrés.

Flexibilité des représentations spatiales chez des souris knock-out pour le gène zif268



Chapitre 7 :

**Le gène immédiat précoce (IEG) zif268 est nécessaire à la stabilité
à long terme des cellules de lieu de CA1 de l'hippocampe
(article n°2)**

Chapitre 8 :

**Le gène zif268 est nécessaire à la re-consolidation de la
représentation spatiale après la réactivation de cette
représentation
(étude n°3)**

Chapitre 7

Le gène immédiat précoce (IEG) zif268 est nécessaire à la stabilité à long terme des cellules de lieu de CA1 de l'hippocampe (article n°2)

7.1. Introduction

Le stockage mnésique nécessite des changements, dépendants de l'expression de gènes, dont le produit conduit à des modifications durables de la force synaptique, de la connectivité et du fonctionnement des réseaux neuronaux. Une étape clef de ces mécanismes moléculaires est l'activation rapide et transitoire d'une classe de gènes immédiats précoces (IEGs) codant des facteurs de transcription inductibles: agissant comme des « commutateurs moléculaires », ils contrôlent l'activation de programmes génomiques des neurones, aboutissant au type de remodelage synaptique et de changements des propriétés des réseaux neuronaux requis pour l'expression de mémoires à long terme (Davis et al., 2003). Parmi ces gènes, Zif268 joue un rôle important dans la potentialisation à long terme (PLT), une forme de plasticité synaptique cruciale pour l'apprentissage et la mémoire (Abraham et al., 1991 ; Knapska et Kaczmarek, 2004 pour une revue). Zif268 est exprimé de façon constitutive dans différentes parties du cerveau et est fortement exprimé dans la formation hippocampique, plus précisément dans CA1, CA3, le subiculum et le cortex entorhinal. Alors que Zif268 n'est quasiment pas exprimé dans le gyrus denté, l'induction de la PLT au niveau du gyrus denté produit une activation rapide et importante de zif268 (Cole et al., 1989 ; Wisden et al., 1990). Des travaux ont montré que zif268 contribue à la maintenance de la PLT, mais pas à son induction (Abraham et al., 1991 ; 1993). En outre, une étude récente utilisant des souris avec une mutation ciblée du gène Zif268 a montré que ces souris présentent une PLT normale dans les phases précoces, mais altérée dans les phases tardives au niveau du gyrus denté. Ces souris sont aussi caractérisées par des déficits à long terme, mais pas à court terme dans des tâches de mémoire spatiale et non spatiale (Jones et al., 2001 ; Bozon et al., 2002, 2003). En résumé, ces données suggèrent un lien entre Zif268, la PLT et la mémoire à long terme au niveau de la formation hippocampique.

Les cellules de lieu semblent être des acteurs de la mémoire à long terme, car d'une part, les champs d'activité des cellules sont réactivés au même endroit à chaque exposition au même environnement (Thompson et Best, 1990) et d'autre part, le pattern d'activité spatial de la population de cellules est spécifique d'un

environnement donné. Ce phénomène, connu sous le nom de « remapping » (Muller et al., 1987 ; Lever et al., 2002), indique que le système des cellules de lieu élabore et conserve des mémoires distinctes pour des contextes distincts, chaque pattern de décharge étant réactivé quand l'animal est exposé à l'environnement correspondant.

Comme le suggère un certain nombre d'études, la PLT serait un mécanisme important pour permettre aux cellules de lieu de maintenir la stabilité des champs d'activité à long terme (Rotenberg et al., 1996 ; McHugh et al., 1996 ; Cho et al., 1998 ; Kentros et al., 1998 ; Ekstrom et al., 2001 ; Dragoi et al., 2003). Zif268 étant un élément nécessaire pour le maintien de la PLT dans le temps, il devrait être aussi nécessaire pour la stabilité à long terme des cellules de lieu et donc pour la stabilité de la mémoire spatiale. Cette question n'a jusque là jamais été abordée. Dans cette étude, nous allons donc examiner l'implication du gène zif268 dans la capacité du système des cellules de lieu à encoder et maintenir des représentations de nouveaux environnements dans le temps. Etant donné que les souris mutantes pour le gène zif268 ont un déficit exclusivement dans les phases tardives de la PLT et qu'elles ont une mémoire à long terme altérée dans de nombreuses tâches, nous faisons l'hypothèse que la formation et le maintien à court terme de la représentation d'un nouvel environnement ne devraient pas être affectés tandis que son maintien à long terme serait perturbé.

7.2. Matériels et méthodes

7.2.1. Animaux

Sept souris mutantes zif268^{-/-} et 7 souris contrôles zif268^{+/+} ont été utilisées. Avant l'implantation des tétrodes, les souris ont été exposées 15 minutes par jour pendant trois semaines à un environnement carré situé dans la pièce expérimentale. Cet environnement carré est donc très familier avant le début des enregistrements, contrairement à l'environnement circulaire qui n'a jamais été expérimenté avant le début des enregistrements. Un génotypage a été réalisé à la fin des expériences afin de confirmer le génotype des souris zif268^{-/-} et des zif268^{+/+}.

7.2.2. Dispositif expérimental et méthodes d'enregistrement

Environnement familier

L'arène carrée (40 x 40 x 35 cm de hauteur) est placée sur une plate-forme surélevée de 90 cm de hauteur. Les rideaux noirs, pourvus de quatre entrées différentes isolent l'arène du reste de la pièce. Le sol de l'arène est en linoléum blanc texturé. Les parois sont en bois peint en gris clair. Une des parois est recouverte d'une carte en carton noir (40 cm). Un objet (bouteille blanche en plastique) est placé devant cette carte pour renforcer l'identité de l'environnement (figure 7.1). L'activité de chaque tétrode est examinée pendant que l'animal explore l'environnement carré familier. Pendant plusieurs semaines, les électrodes sont descendues, à la recherche de potentiels d'action d'une amplitude suffisamment importante ($>100 \mu\text{V}$, i.e., environ 3 fois le bruit de fond).

Environnement nouveau

Quand une cellule est détectée, après deux sessions initiales d'enregistrement dans l'environnement carré, les souris sont exposées à un nouvel environnement. Deux nouveaux environnements ont été utilisés. L'un d'entre eux est circulaire (45 cm de diamètre), avec un sol noir texturé et une paroi en plastique noir (35 cm de hauteur) au niveau de laquelle une carte en carton gris clair est attachée (40 cm). Un objet bleu de 10 cm de haut en forme de cactus est placé devant la carte. L'autre environnement est en forme de triangle équilatéral (61 cm de côté). Les parois (35 cm de hauteur) sont en bois et le sol est un linoléum marron clair texturé. Une carte blanche est attachée sur une des parois (40cm), et un objet vert en forme de cactus de 10 cm de haut est placé devant la carte (figure 7.1). Les trois environnements ont des surfaces au sol identiques ($\sim 1600 \text{ cm}^2$).

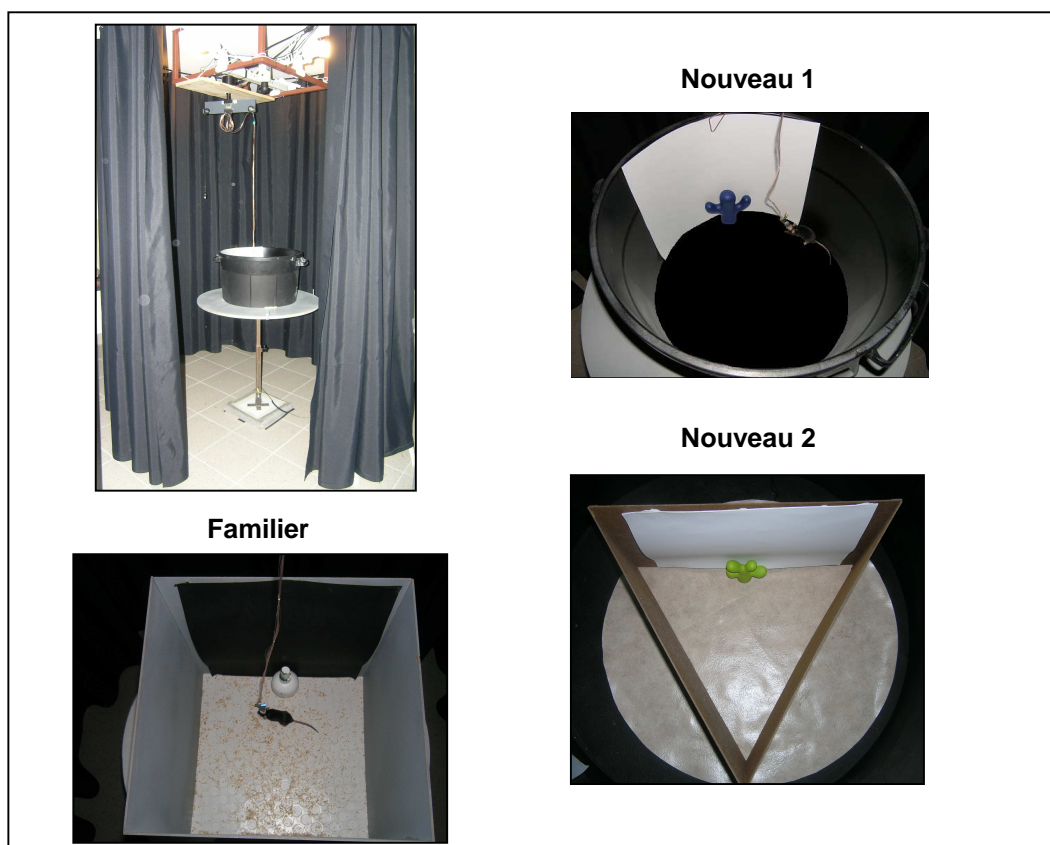


Figure 7.1. Photos des environnements utilisés dans l'expérience. Avant le début des enregistrements, les souris ont été familiarisées à l'environnement carré pendant 3 semaines. Les environnements « cercle » et « triangle » n'ont jamais été visités avant le début des enregistrements. En plus de l'indice fourni par la carte, un objet est placé devant cette carte pour renforcer l'identité de chaque environnement. Cet objet a aussi été placé dans le but d'éviter l'instabilité des champs d'activité d'un jour sur l'autre, qui a été décrite chez des souris normales lorsqu'elles n'avaient aucune tâche à réaliser (Kentros et al., 2004). En stimulant le système attentionnel par la présence de l'objet, nous pensons compenser ce problème d'instabilité des signaux.

7.2.3. Protocole expérimental

Quand une cellule est trouvée, les souris mutantes et contrôles sont soumises à une séquence de 7 sessions se déroulant sur deux jours (figure 7.2).

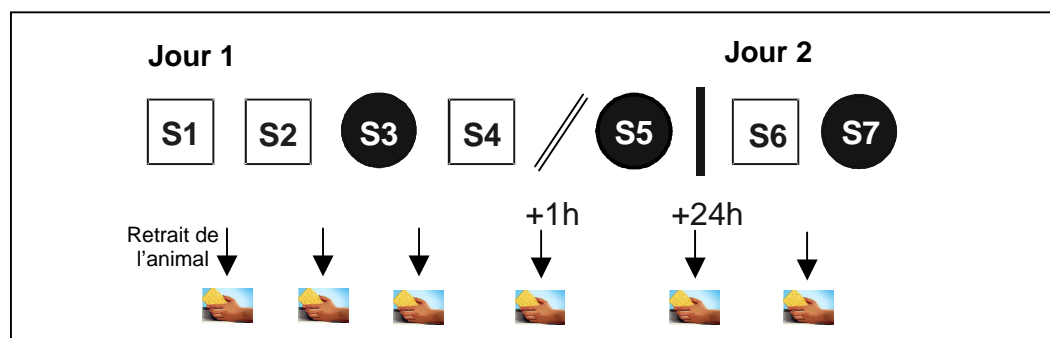


Figure 7.2. Le protocole d'enregistrement se déroule sur deux jours afin de tester la stabilité à long terme des champs d'activité. Une ou plusieurs cellules sont donc conservées sur les deux jours d'enregistrement.

Les sessions de 1 à 5 se déroulent le premier jour alors que les sessions 6 et 7 se déroulent 24 heures après la fin de la dernière session du premier jour. Nous soulevons les questions suivantes : 1) Entre S1 et S2, est-ce que les champs d'activité sont stables dans des conditions constantes ? 2) En S3, est-ce que les cellules sont capables de former une nouvelle représentation ? 3) En S5, est-ce que les cellules de lieu peuvent réactiver la nouvelle représentation après un court délai (1 h) ? 4) En S7, est-ce que les cellules de lieu peuvent réactiver la nouvelle représentation après un long délai (24 h) ? Excepté pour les intervalles entre S4/S5 et S5/S6, tous les intervalles de sessions sont de 5 minutes. Entre les sessions, les souris sont remises dans leur cage et le sol de l'arène est nettoyé pour neutraliser les indices olfactifs. Comme nous le verrons dans les résultats, une expérience additionnelle a consisté à exposer les animaux à un deuxième nouvel environnement, une arène triangulaire. Le protocole d'enregistrement est strictement identique à celui exposé précédemment, l'arène triangulaire remplaçant l'arène circulaire. Après la séquence de sessions, les électrodes sont enfoncées pour enregistrer un nouvel ensemble de cellules, et le jour suivant une nouvelle séquence d'enregistrement peut débuter. Chaque souris est donc exposée 3 fois à l'environnement nouveau dans une séquence, et chaque séquence est répétée plusieurs fois, ce qui conduit à rendre l'environnement nouveau, familier au bout d'un certain nombre de séquences.

7.3. Analyse des données

Voir « matériels et méthodes communs ».

7.4. Résultats

Un total de 274 cellules de lieu a été enregistré dans CA1. Parmi ces cellules, 94 ont été enregistrées chez 7 souris contrôles et 180 cellules chez 7 souris mutantes pour le gène *zif268*. Parmi ces 7 souris mutantes pour *zif268*, six sont homozygotes (*zif268*^{-/-}) et une est hétérozygote (*zif268*^{+/-}). Nous avons enregistré 30 cellules de lieu chez cette souris hétérozygote, mais comme nous n'avons pas trouvé de différence dans les réponses des cellules de lieu entre les souris *zif268*^{+/-} et les souris *zif268*^{-/-}, les cellules de ces deux génotypes ont été regroupées pour l'analyse. Les souris contrôles ont été soumises à un total de 26 séquences de sessions (3.7 en moyenne) et les *zif268* à un total de 31 séquences de sessions (4.4 en moyenne).

Il n'a pas toujours été possible d'enregistrer la séquence complète de sessions pour toutes les cellules, car certaines s'arrêtent de décharger ou d'autres encore, se mettent à décharger au cours de la séquence à cause des manipulations environnementales (remapping). Etant donné que l'analyse des données repose sur la comparaison entre paires de sessions, nous avons considéré spécifiquement toutes les cellules qui sont enregistrées dans les deux sessions de chaque paire d'intérêt.

Stabilité des champs d'activité dans l'environnement familial

La comparaison des paramètres de la décharge des cellules de lieu entre les deux groupes (zif268 et contrôle) en S1 ne révèle aucune détérioration chez les souris mutantes (voir **article 2** en cours pour les détails). Nous avons aussi examiné la stabilité inter-session des champs d'activité dans l'environnement familial (S1-S2). Les souris contrôles mais aussi les mutantes sont capables de maintenir une activité stable entre S1 et S2. La figure 7.3A montre des exemples représentatifs des cartes d'activité de S1 et S2 dans les deux groupes. La distribution des coefficients de similarité (Z à 0° = score de similarité) entre S1 et S2 montre des valeurs élevées et des profils similaires dans les deux groupes (figure 7.3B). La comparaison des moyennes des scores de similarité ne révèle aucune différence entre les groupes (zif268 : 0.408, contrôles : 0.435, test t , $t(272) = 0.81$, $p = 0.42$).

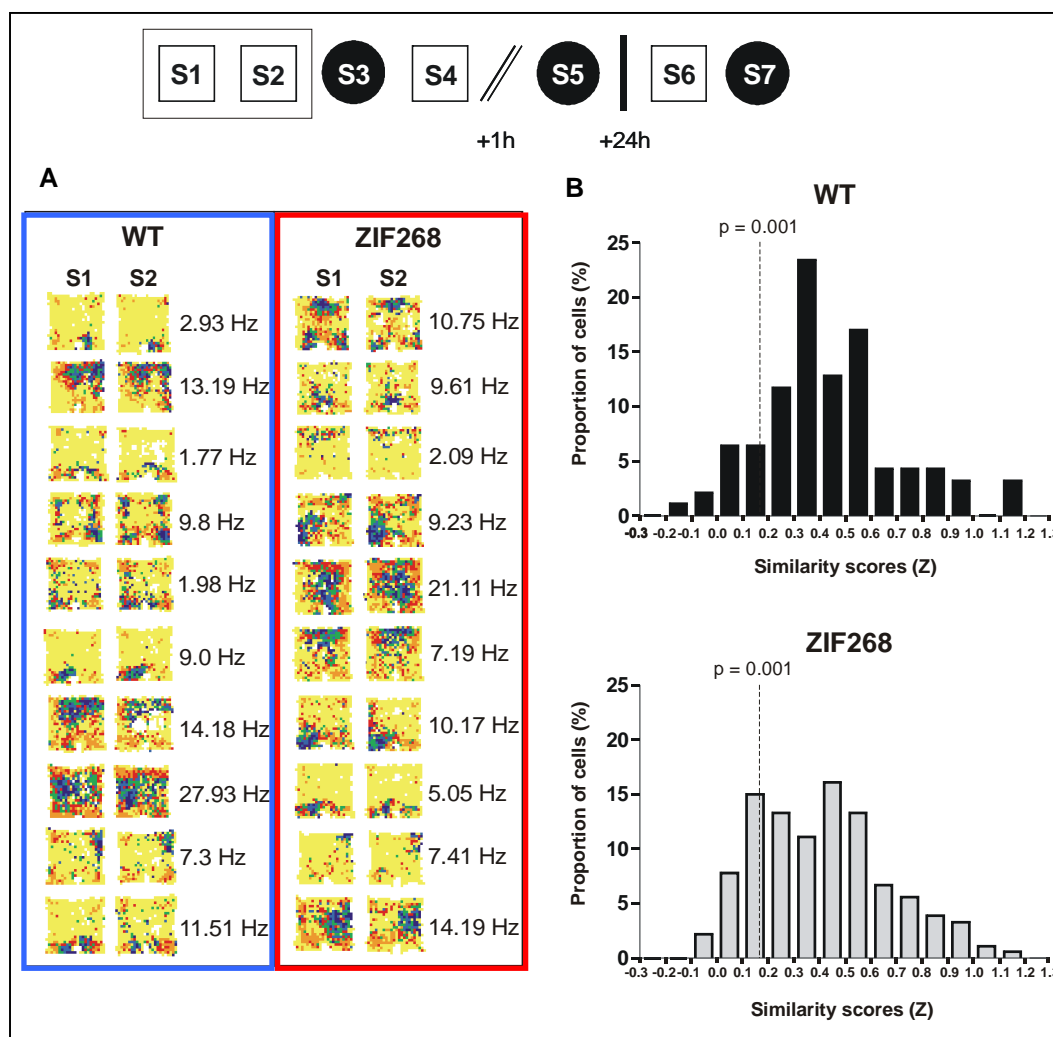


Figure 7.3. Formation et stabilité des champs d'activité dans l'environnement familial (entre S1 et S2) comparable chez les souris *zif268*^{-/-} et chez les souris contrôles. **A.** Exemples représentatifs des cartes d'activité montrant la stabilité des champs entre S1 et S2 chez les souris contrôles ainsi que chez les mutants. **B.** Distribution des cellules en fonction de leur coefficient de similarité (bin de 0.1) entre S1 et S2 chez les contrôles (noir) et chez les mutants (gris).

Exposition au nouvel environnement

Après la session S2, les souris sont exposées à un environnement nouveau (cercle). Cette manipulation a pour conséquence la formation d'un nouveau motif de décharge, caractéristique d'un remapping, à la fois chez les souris contrôles et chez les souris mutantes. Dans l'environnement nouveau, chez les souris contrôles, 6 cellules s'arrêtent de décharger (6/94, 6.4%) et 2 cellules se mettent à décharger, et chez les souris *zif268*, 27 cellules s'arrêtent (27/180, 15%) et 6 cellules se mettent à décharger (3.3%). Parmi les cellules présentes en S2 et en S3 (contrôles, $n = 96 - 6 = 88$; *zif268*, $n = 180 - 27 = 153$), les champs d'activité déchargent à un nouvel endroit. Le score de similarité est beaucoup plus faible pour S2/S3 que pour S1/S2 dans les deux groupes (test t pour des échantillons

appariés, contrôles : $t(87) = 12.16$, $p < 0.0001$; Zif268 : $t(152) = 16.51$, $p < 0.0001$). De plus, il n'y a en effet aucune différence entre les groupes concernant le score de similarité pour S2/S3 (test t pour des échantillons indépendants, $t(239) = -0.70$, $p = 0.49$). Ces résultats montrent donc que le phénomène de remapping entre S2 et S3 est aussi important chez les mutantes que chez les contrôles. L'altération des coefficients de similarité pour les deux groupes est présentée sur la figure 7.4A. La figure 7.4B montre des exemples représentatifs de cartes d'activité en S2 et en S3 pour les souris contrôles et les souris zif268.

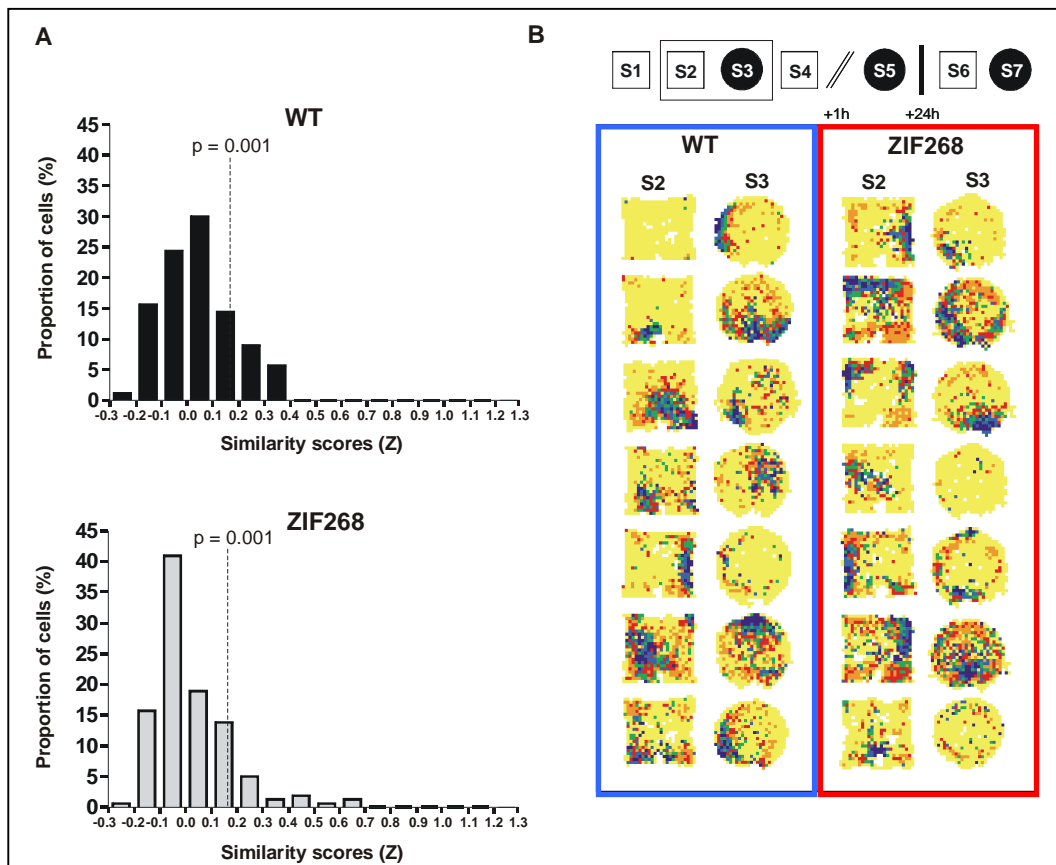


Figure 7.4. Le changement d'environnement (carré à cercle) produit un remapping des cellules de lieu, qui est aussi important chez les souris contrôles que chez les souris mutantes zif268. **A.** Distribution des cellules en fonction de leur coefficient de similarité entre S2 et S3, chez les contrôles (noir) et chez les mutantes (gris). **B.** Exemples représentatifs des cartes d'activité montrant que le remapping de l'activité des champs entre S2 et S3 est aussi important chez les souris contrôles que chez les mutantes.

Afin d'examiner si le remapping est immédiat ou si sa mise en place nécessite plusieurs expositions à la nouveauté (Lever et al., 2002), et si cela diffère des souris contrôles aux souris zif268, nous avons regardé les scores de similarité des cellules de lieu qui ont été enregistrées dans la première séquence, c'est-à-dire pendant la première exposition au nouvel environnement. La figure 7.5A montre les scores de similarité S1/S2 et S2/S3 lors de la première séquence, pour les deux groupes. Une ANOVA (groupe x nouveauté) révèle qu'il n'y a pas d'effet groupe

($F(1,96) = 0.35$, $p = 0.55$) mais qu'il y a un effet significatif de la nouveauté ($F(1,96) = 51.02$, $p < 0.0001$) et pas d'effet de l'interaction ($F(1,96) = 0.93$, $p = 0.34$). Un test post-hoc (Newman-Keuls) indique que les scores de similarité S1/S2 et S2/S3 ne diffèrent pas entre les groupes (tous les $p > 0.05$), mais le score de similarité S2/S3 est beaucoup plus faible que le score de similarité S1/S2 chez les souris contrôles, et chez les *zif268* ($p = 0.00013$ et $p = 0.00014$ respectivement). Ces résultats montrent donc que le remapping se produit dès la première séquence chez les contrôles, comme chez les mutantes.

Nous avons aussi recherché une éventuelle différence qualitative dans le remapping (remapping rotationnel) entre les souris *zif268* et les contrôles. La figure 7.5B montre la distribution des angles de rotation correspondant à la corrélation maximale entre les deux cartes d'activité de S1 et de S2 ou à la corrélation maximale entre les deux cartes d'activité de S2 et de S3, pour les deux groupes. Dans les deux groupes, les angles de rotation correspondant au Z_{Max} entre S1 et S2 sont clairement concentrés autour de 0° , ce qui confirme la stabilité des champs d'activité dans l'environnement familier. La distribution des angles correspondant au Z_{Max} entre S2 et S3 montre un profil similaire pour les deux groupes, ce qui indique qu'il n'y a pas de biais dans la rotation des champs d'activité, c'est-à-dire que les champs des cellules des deux groupes changent d'endroit de manière homogène dans l'environnement nouveau et pas selon une direction préférentielle.

Globalement, nos résultats démontrent que la stabilité des cellules de lieu dans des conditions stables, ainsi que la formation d'une nouvelle représentation par les cellules ne sont pas dépendantes du gène *zif268*.

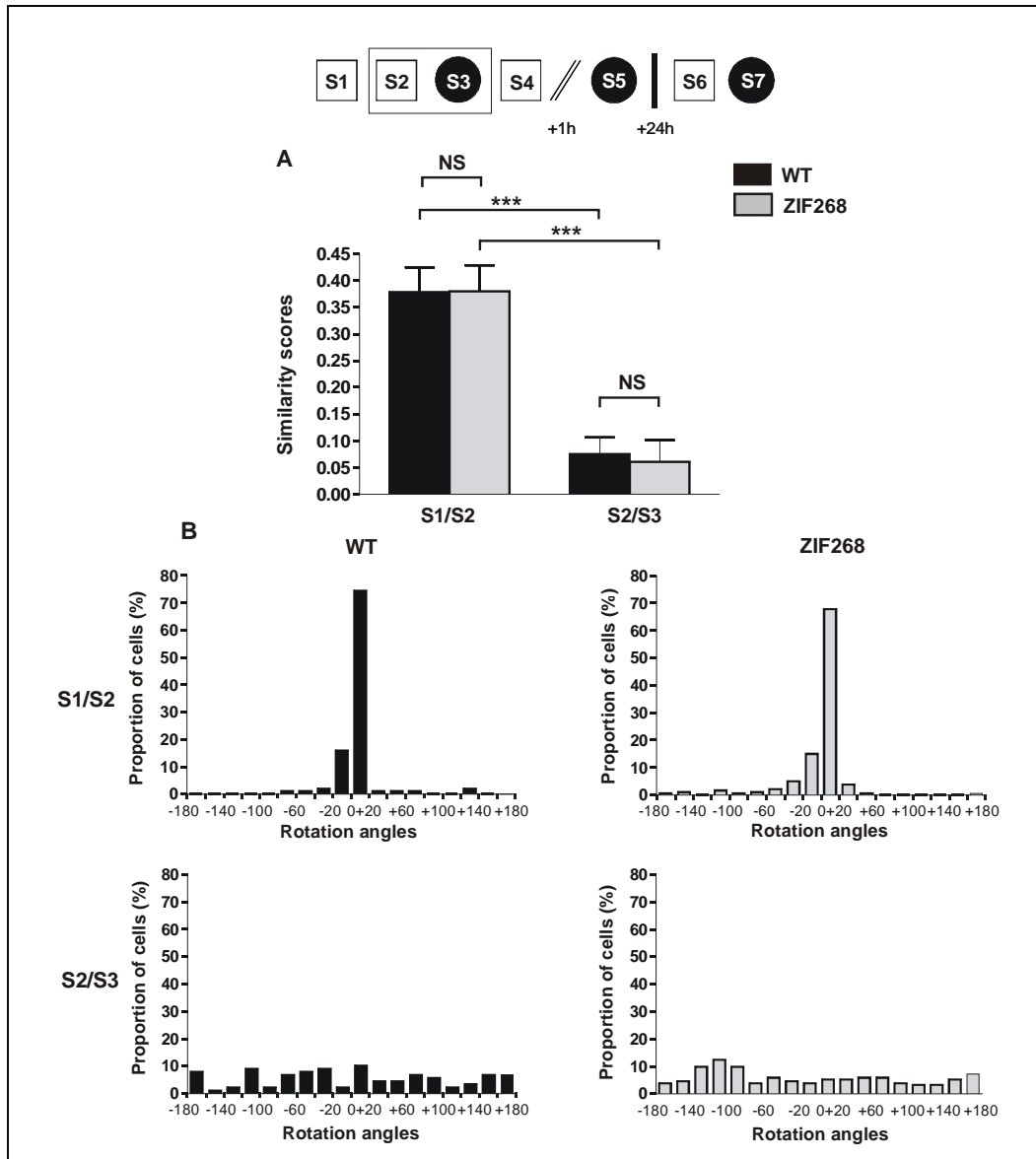


Figure 7.5. Les souris mutantes sont capables, malgré la délétion du gène *zif268*, de créer des représentations nouvelles dans l'environnement nouveau (cercle) et ce, aussi rapidement que les souris contrôles. **A.** Comparaison des scores de similarité de S1/S2 et de S2/S3 pour les souris contrôles et pour les souris mutantes. **B.** Distribution des angles de rotation des champs d'activité, correspondant à la corrélation maximale (Z_{Max}) entre S1 et S2 (en haut) et entre S2 et S3 (en bas). Les souris contrôles sont représentées en noir et les souris *zif268*, en gris.

Ré-exposition à l'environnement familial

Après l'exposition à l'environnement nouveau circulaire, nous avons examiné la stabilité de la représentation de l'environnement familial en remettant la souris dans l'environnement familial, une manipulation qui normalement produit une ré-activation de la représentation familière. Un tel résultat a effectivement été observé chez les souris contrôles. Tous les champs correspondant à la représentation de l'arène carrée ont bien été ré-activés. Les scores de similarité pour S2/S4 et S1/S2 chez les contrôles ne sont pas différents ($t(87) = 1.95$, $p > 0.05$). En revanche et de façon surprenante, chez les souris mutantes *zif268*, la

représentation familière du carré n'a pas été réactivée chez un nombre important de cellules. Les scores de similarité des souris zif268 sont plus faibles pour S2/S4 que pour S1/S2 ($t(152) = 4.181$, $p \ll 0.001$) et les scores de similarité pour S2/S4 des souris zif268 sont plus faibles que les scores de similarité pour S2/S4 des souris contrôles ($t(87) = 2.57$, $p < 0.05$). En regardant plus spécifiquement l'évolution du score de similarité de S2/S4 en fonction des séquences de sessions, nous pouvons évaluer si ce remapping est plutôt temporaire ou s'il persiste malgré la répétition des expositions à la séquence de sessions. Comme nous pouvons le constater sur la figure 7.6A, le remapping est observé seulement dans les deux premières séquences (scores de similarité S2/S4, tests t pour des échantillons indépendants: première séquence, contrôles > zif268, $t(52) = 2.54$, $p < 0.05$; deuxième séquence, contrôles > zif268, $t(52) = 2.59$, $p < 0.05$; troisième et quatrième séquences, $p > 0.05$).

La figure 7.6B de la distribution des angles de rotation (correspondant au Z_{Max} pour S2/S4) des deux premières séquences montre que la position de nombreux champs d'activité s'écarte clairement de l'angle 0° . Un test de Watson U^2 , pour données circulaires, révèle que la distribution des angles de rotation (S2/S4) de zif268 diffère de celle des contrôles ($U^2 = 0,655$, $p < 0.001$). La distribution des angles de rotation de zif268 pour S2/S4 diffère aussi de la distribution des angles de rotation de zif268 et des contrôles pour S1/S2 (tous les $p < 0.001$).

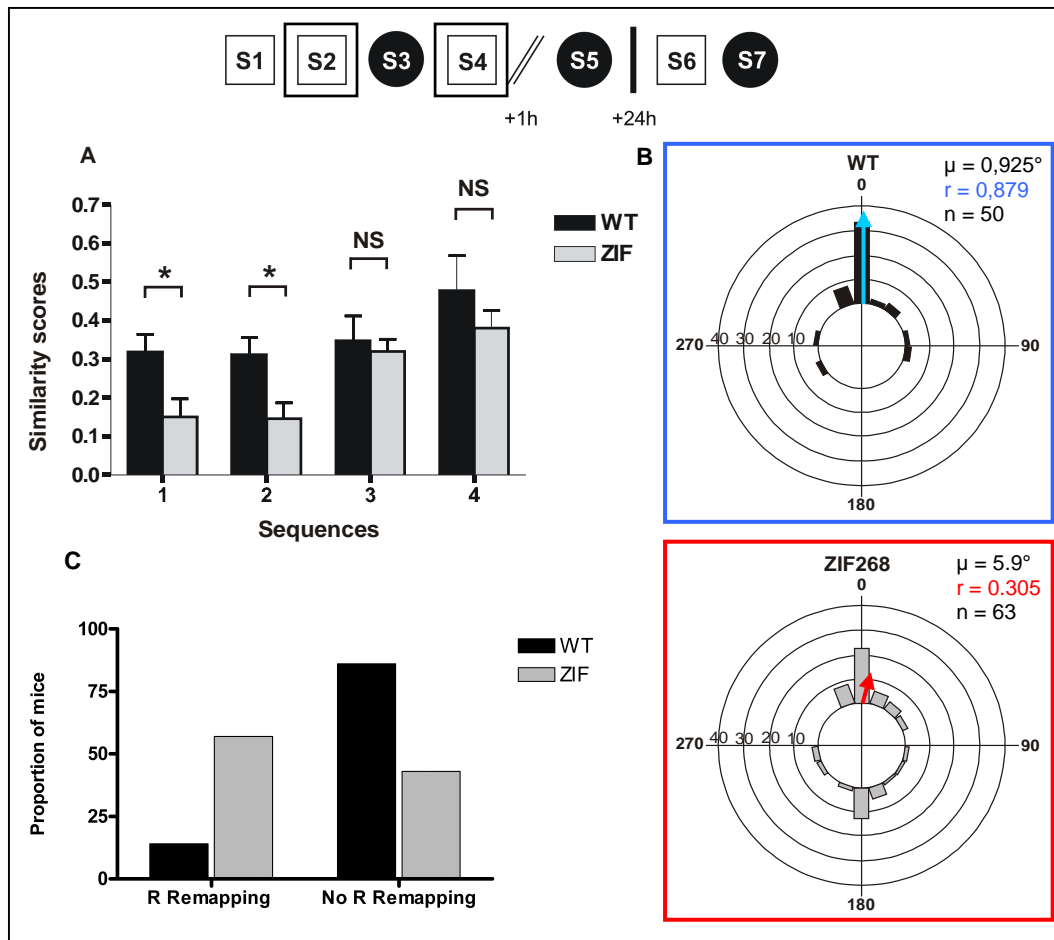


Figure 7.6. Lorsque les souris sont remises dans l'environnement familier (carré), un remapping de type rotationnel est observé uniquement chez les souris mutantes *zif268*.

A. Scores de similarité S2/S4 en fonction des séquences. **B.** Distribution des angles de rotation des champs d'activité, correspondant à la corrélation maximale entre S2 et S4, chez les souris contrôles (bleu) et les souris *zif268* (rouge). Les deux distributions d'angle ne sont pas uniformes (Test Rayleigh : $p < 0.05$). **C.** Un plus grand nombre de souris *zif268* (4/7 contre 1/7 chez les contrôles) présentent du remapping rotationnel (*R Remapping*).

Les champs d'activité dont l'angle de rotation excède $0^\circ \pm 30^\circ$ sont considérés comme des champs qui ont changé de localisation. En accord avec le fait que le remapping entre S2 et S4 n'est observé que dans les deux premières séquences, nous avons évalué le nombre de cellules ayant des champs qui ont changé d'emplacement chez les souris *zif268* et les contrôles au cours des deux premières séquences (*zif268* : $n = 63$, contrôles : $n = 50$). Nous en avons trouvé 42.9% (26/63) chez les souris *zif268* et 14.8% (6/50) chez les contrôles (test du Chi deux, $\chi^2 = 10.24$, $p < 0.01$). De manière intéressante, l'examen visuel des cartes d'activité des 26 cellules de *zif268* qui présentent un remapping, suggère la présence d'un type particulier de remapping, appelé remapping rotationnel, dans lequel la position angulaire du champ est modifié (Muller et Kubie, 1987). La présence d'un tel remapping est confirmé par le fait que le Z_{Max} (coefficient de corrélation maximal) pour S2/S4 est similaire au score de similarité (Z à 0° ou

coefficient de corrélation à 0°) pour S1/S2 (test t pour des échantillons appariés, $t(25) = 0,822$, $p > 0.05$), ce qui indique qu'après une simple rotation de la carte de S4 sur celle de S2, on peut obtenir une bonne superposition des champs d'activité (figure 7.7A). Il faut noter cependant que la fréquence d'activité en S4 est aussi affectée par rapport à celle de S2. Le calcul d'un index de variation (McHugh et al., 2007) nous permet d'évaluer la différence de fréquence entre deux cartes d'activité, ici entre S2 et S4 : $(\text{fréquence la plus élevée} - \text{fréquence la moins élevée}) / (\text{fréquence la plus élevée} + \text{fréquence la moins élevée})$. Une absence de variation de fréquence entre les deux sessions correspond à un index de 0. Au contraire, plus les fréquences varient, plus l'index se rapproche de 1, score maximal. L'index trouvé entre S2 et S4 est de 0.26 ± 0.04 . Un test t de comparaison de moyenne à la valeur de référence 0 (0, qui correspond à l'absence de différence de fréquence entre les cartes) montre qu'il existe une variation significative de fréquence ($t(25) = 2.80$, $p < 0.01$).

L'enregistrement simultané d'un ensemble important de cellules montre souvent des réponses cohérentes. Une seule séquence, et donc une seule souris zif268 pourrait donc contribuer seule, à l'augmentation globale de la proportion de cellules présentant du remapping rotationnel. Parmi les cellules dont le champ d'activité a tourné de plus de 30° lors des deux premières séquences, (zif268, $n = 26$; contrôles, $n = 6$) nous avons retiré les cellules dont le Z_{Max} ne dépasse pas 0.2 afin de comptabiliser uniquement les cellules présentant le remapping rotationnel. Parmi les 21 cellules des souris zif268 présentant le remapping rotationnel, 4 souris sur 7 (57%) enregistrées sont concernées par ce remapping, alors que parmi les 4 cellules des souris contrôles présentant du remapping rotationnel, seulement une souris sur 7 (14%) est concernée (figure 7.6C). La figure 7.7A montre quelques exemples représentatifs de cartes d'activité entre S2 et S4 dans les deux groupes, et illustre l'effet du remapping rotationnel spécifique aux souris zif268.

En résumé, les résultats de la ré-exposition à l'environnement familier montrent qu'une large proportion de cellules des souris zif268 ne réactive pas la représentation familière. Pourtant, le fait que ces cellules présentent du remapping rotationnel, suggère une désorientation de la représentation initiale plutôt qu'une formation d'une représentation complètement nouvelle.

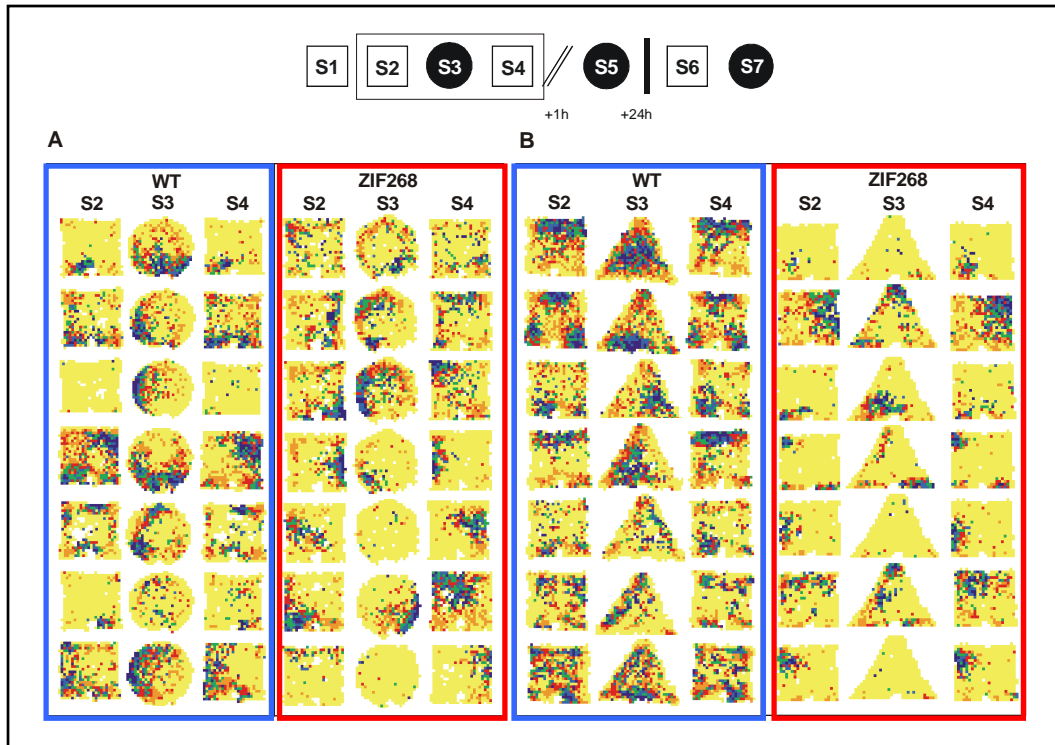


Figure 7.7. Exemples de cartes d'activité représentatifs de l'instabilité (remapping rotationnel) des champs d'activité à court terme dans l'environnement familier (S2/S4) après la session dans le nouvel environnement (cercle) chez les souris zif268. Cette instabilité n'est plus observée après la session dans un deuxième nouvel environnement (triangle).

Même si le remapping rotationnel est un effet qui disparaît après la deuxième séquence, nous avons voulu examiner s'il pourrait réapparaître quand l'animal est de nouveau exposé à un autre nouvel environnement. Pour tester cela, les mêmes animaux ont été exposés à une ou deux séquences successives dans un environnement triangulaire auquel ils n'ont jamais été exposés. Dans cette condition, nous avons enregistré un total de 45 cellules de lieu (19 chez 2 contrôles, et 26 chez 3 souris mutantes zif268). Dans les deux groupes, le score de similarité de S1/S2 pour les deux séquences est élevé, ce qui indique une bonne stabilité des champs d'activité (score de similarité, contrôle: 0.43 ± 0.06 ; zif268: 0.41 ± 0.05 , test t pour échantillons indépendants, $p > 0.05$). L'exposition au triangle induit un remapping chez les contrôles (score de similarité S2/S3: 0.03 ± 0.03) et chez les zif268 (score de similarité S2/S3: 0.02 ± 0.03). Quand les souris sont ré-exposées à l'environnement familier, toutes les cellules ré-activent les champs correspondant à la représentation du carré élaborée en S2 dans les deux groupes (score de similarité S2/S4, contrôles: 0.44 ± 0.05 ; zif268: 0.36 ± 0.04 , test t pour échantillons indépendants, $p > 0.05$). La figure 7.7B montre des exemples de carte d'activité chez les souris contrôles et zif268. Ainsi, ces résultats montrent que le remapping observé chez les zif268 au niveau de la ré-exposition à l'environnement familier, n'est pas une réponse systématique à chaque nouvel

environnement. Le remapping serait plutôt le reflet d'une interférence entre la représentation nouvelle et la représentation familière, suggérant une instabilité à long terme de la représentation familière chez les souris zif268.

Stabilité à court terme des champs d'activité dans l'environnement nouveau (S5)

Après la ré-exposition à l'environnement familier (S4), la stabilité à court terme de l'activité des cellules de lieu dans l'environnement nouveau (circulaire) est testée 1h après la fin de la session 4 (et 1h 20 après la fin de la session 3 (environnement circulaire)). La figure 7.8A montre que les profils de distribution des scores de similarité de S3/S5 pour les souris contrôles et zif68 sont comparables. La comparaison des scores de similarité entre les groupes ne révèle aucune différence, que l'on considère toutes les séquences ou bien seulement les deux premières (zif268: 0.296, contrôles: 0.318, test pour échantillons indépendants $t(211) = 0.54$, $p = 0.59$, et zif268: 0.248, contrôles: 0.332, test pour échantillons indépendants $t(101) = 1.72$, $p = 0.088$, respectivement). Le score de similarité de S3/S5 est sensiblement plus faible que celui de S1/S2, probablement à cause du fait que l'environnement circulaire n'est pas aussi familier que l'environnement carré. Cependant, ce constat est valable pour les deux groupes. Cela suggère que les champs d'activité entre S3 et S5 sont aussi stables chez les zif268 que chez les contrôles, indiquant que la représentation du nouvel environnement n'est pas dégradée chez les zif268 sur des délais courts (figure 7.8B).

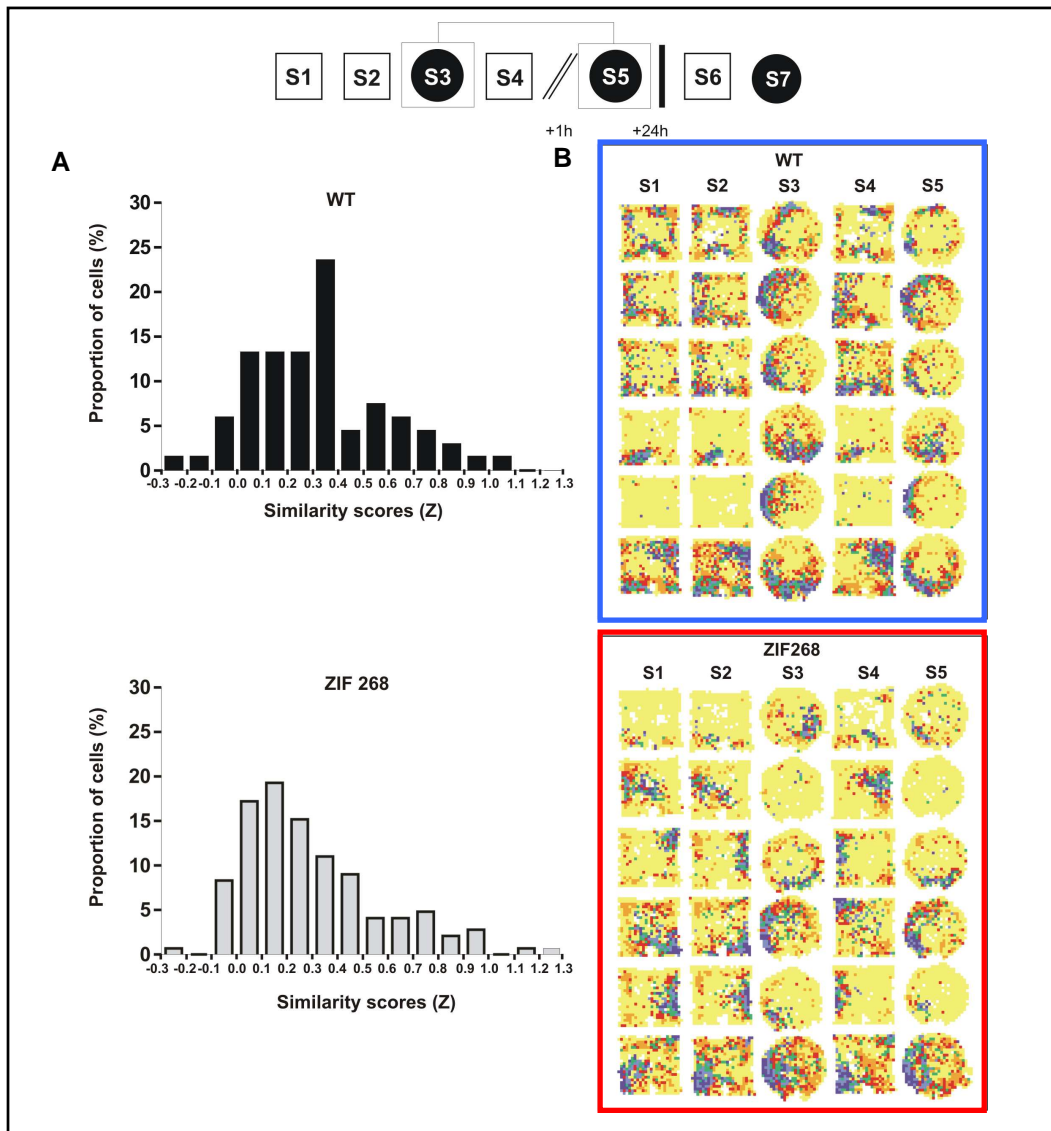


Figure 7.8. Il n'y a pas de différence de la stabilité à court terme de la représentation dans l'environnement nouveau (S3/S5) entre les souris zif268 et les souris contrôles. A. Distribution des cellules en fonction de leur coefficient de similarité entre S3 et S5, chez les contrôles (noir) et chez les mutants (gris). **B.** Exemples représentatifs des cartes d'activité montrant qu'il n'y a pas de différence entre les souris contrôles et les mutants concernant la stabilité à court terme des champs entre S3 et S5 dans l'environnement nouveau (cercle).

Stabilité à long terme des champs d'activité dans l'environnement nouveau (S7)

Vingt-quatre heures après la session S5, nous avons examiné si les représentations appropriées pouvaient être rétablies quand les souris étaient ré-exposées à l'environnement familier (S6) et à l'environnement nouveau (S7). Un certain nombre de cellules qui ont arrêté de décharger entre le jour 1 et le jour 2 n'a pas été pris en compte dans les analyses qui suivent. La stabilité des champs d'activité à long terme pour l'environnement familier (carré) et pour l'environnement nouveau (cerculaire) a été évaluée en calculant les scores de similarité de S1/S6 et de S5/S7 respectivement.

Le score de similarité S1/S6 n'est pas différent entre les zif268 et les contrôles, lorsqu'on regroupe toutes les séquences (contrôles: 0.31, zif268: 0.27, test pour des échantillons indépendants, $t(235) = 0.99$, $p = 0.32$) ou seulement les deux premières (contrôles: 0.25, zif268: 0.22, test pour des échantillons indépendants, $t(87) = 0.60$, $p = 0.55$), ce qui suggère une stabilité des champs équivalente pour les deux groupes (figure 7.9A). Il faut cependant noter, qu'en considérant les deux premières séquences, le score de similarité est plus faible pour S1/S6 que pour S1/S2 (environnement familier à court terme et à long terme respectivement) dans les deux groupes (test t pour des échantillons appariés, contrôles : $t(39) = 11.00$, $p < 0.001$; zif268: $t(48) = 5.48$, $p < 0.001$). Une des raisons possibles à ce faible coefficient de similarité est que la sélectivité spatiale, estimée grâce au contenu informationnel des cartes d'activité, est plus faible en S6 qu'en S1 (contrôles: $t(39) = 2.16$, $p < 0.05$; zif268: $t(48) = 2.15$, $p < 0.05$). En estimant que l'instabilité en S6 pourrait provenir de causes différentes chez les contrôles et chez les zif268, nous avons examiné la possibilité que chez les souris zif268, l'instabilité trouvée dans l'environnement familier en S4 pourrait avoir des effets durables et affecter donc la stabilité en S6. Nous avons donc calculé séparément le score de similarité de S1/S6 pour les cellules qui avaient des champs stables en S4 et le score de similarité de S1/S6 pour les cellules qui avaient des champs instables en S4, ceci pour les deux premières séquences des souris zif268. Néanmoins, la comparaison entre ces deux scores ne révèle aucune différence (test t pour des échantillons appariés, $t(46) = 0.403$, $p > 0.05$). Ainsi, même si les raisons pour lesquelles l'activité des cellules de lieu est dégradée entre S1 et S6 demandent à être clarifiées, nous avons observé ce déficit chez les souris zif268 comme chez les contrôles, ce qui indique que ce n'est pas un effet spécifique de la délétion du gène zif268.

En revanche, le score de similarité S5/S7 est beaucoup plus faible chez les souris zif268 que chez les contrôles dans les deux premières séquences (test t pour échantillons indépendants, $t(75) = 3.10$, $p < 0.01$) (Figure 7.9A). Chez les souris zif268, le score de similarité S5/S7 est aussi plus faible que celui de S3/S5, alors qu'il n'y a pas de différence entre ces deux scores chez les contrôles (tests t pour des échantillons appariés, zif268: $t(32) = 3.51$, $p = 0.0013$; contrôles: $t(31) = 1.13$, $p > 0.05$). De même que précédemment, nous n'avons trouvé aucune différence entre le score de similarité de S5/S7 des cellules qui ont des champs d'activité stables en S4 et celui des cellules avec des champs instables en S4 (test t pour des échantillons appariés, $t(33) = 0.47$, $p > 0.05$), ce qui nous permet d'écarter l'hypothèse d'un lien entre l'instabilité en S4 et l'instabilité en S7. La figure 7.9B montre des exemples de cartes d'activité en S7 pour les deux groupes. Dans

l'ensemble, ces résultats montrent que le souris mutantes *zif268* ne sont pas capables de ré-activer correctement la représentation du nouvel environnement, ce qui suggère donc un effet de la délétion du gène *zif268* dans le maintien à long terme de la représentation spatiale.

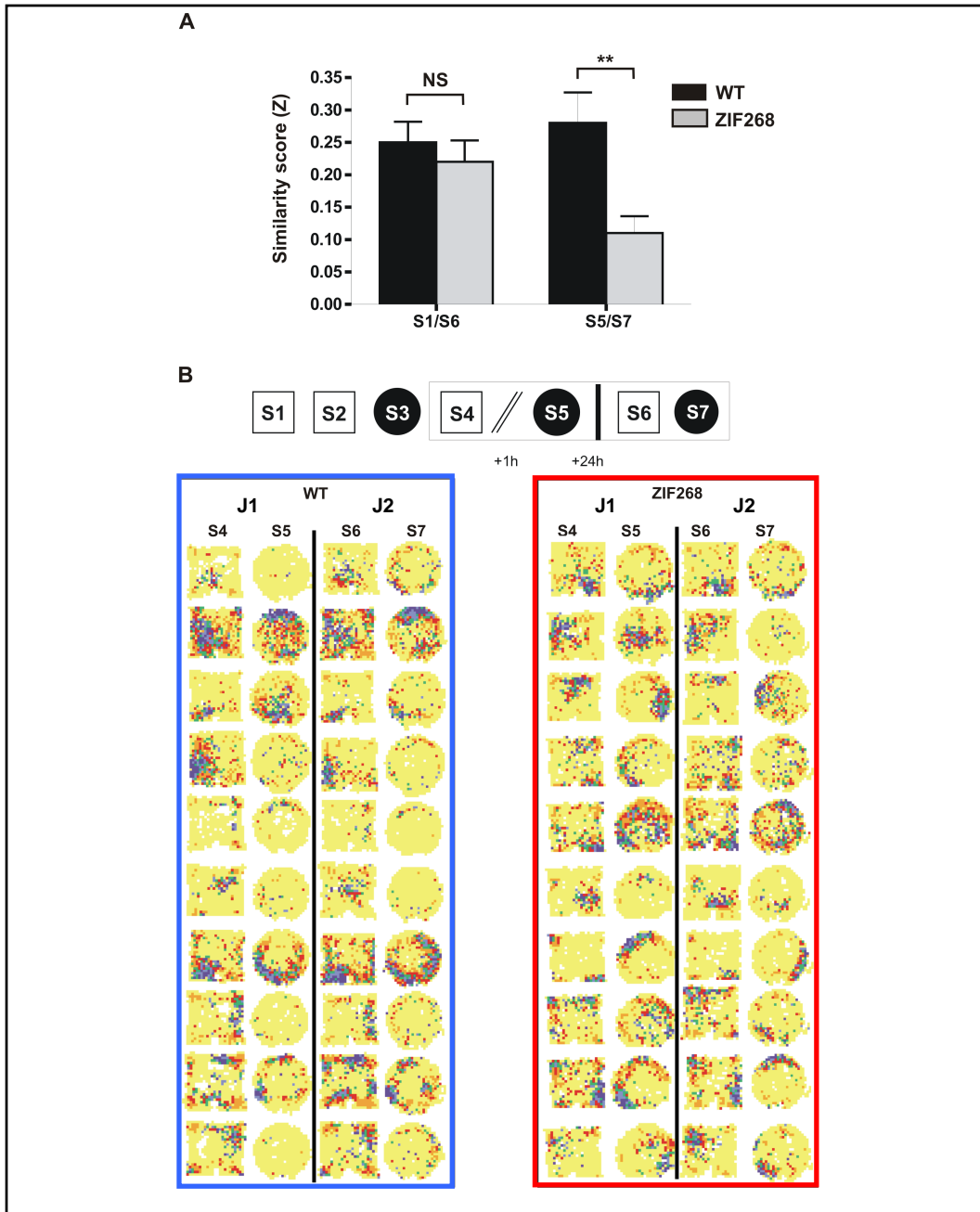


Figure 7.9. La mémoire à long terme de la représentation spatiale d'un environnement nouveau est très altérée chez les souris mutantes pour le gène *zif268*. **A.** Comparaison des scores de similarité de S1/S6 (stabilité à long terme dans l'environnement familier) et de S5/S7 (stabilité à long terme dans l'environnement nouveau) pour les souris contrôles et pour les souris mutantes. **B.** Exemples représentatifs des cartes d'activité montrant l'instabilité des champs d'activité entre S5 et S7 chez les souris mutantes.

7.5. Discussion

Ce travail représente la première étude sur la contribution d'un gène immédiat précoce (IEG) *zif268* – ayant un rôle crucial dans la PLT et dans la mémoire à long terme (Jones et al., 2001 ; Bozon et al., 2003) – à l'expression de la mémoire spatiale par les cellules de lieu de l'hippocampe.

Nous avons enregistré les neurones pyramidaux dans la région CA1 de l'hippocampe de souris dont le gène *zif268* a été supprimé dès la naissance, et nous avons examiné la capacité du système des cellules de lieu (1) à maintenir une représentation stable dans l'environnement familier, (2) à former une représentation dans un nouvel environnement, et (3) à réactiver cette représentation après un court délai (1h) et après un plus long délai (24h).

Une première découverte a été que la délétion de *zif268* n'empêche pas la formation rapide d'une nouvelle représentation. Quand les souris sont exposées au nouvel environnement (circulaire), les cellules de lieu des souris *zif268* montrent en effet un remapping immédiat, formant une nouvelle représentation bien distincte de celle de l'environnement familier carré. Jusqu'à ce point, les résultats suggèrent que le fonctionnement des cellules de lieu des souris mutantes est normal. Pourtant, nous avons trouvé de façon surprenante, que quand les souris sont ré-exposées à l'environnement familier, la représentation correspondant à l'environnement carré n'est pas réactivée comme chez les souris contrôles. En fait, une large proportion de champs d'activité subit du remapping rotationnel après l'exposition à la nouveauté. Donc, il semble que la formation d'une nouvelle représentation interfère avec la réactivation de la représentation de l'environnement familier. Il faut cependant noter que les champs changent de position angulaire dans l'arène, tout en maintenant les relations spatiales avec les parois de l'environnement, ce qui indique une orientation incorrecte de la carte du carré (associée à une modification de la fréquence), plutôt que la création d'une toute nouvelle représentation. A notre connaissance, un tel effet interférant n'a jamais été montré que ce soit à la suite d'une manipulation environnementale, ou à la suite d'une lésion, ou d'un traitement pharmacologique, et donc dévoilerait une contribution spécifique du gène *zif268* au système de cellules de lieu. Une interprétation possible est que la représentation de l'environnement carré n'a pas dû être complètement stabilisée dans le réseau des cellules de lieu de CA1, malgré l'entraînement intensif dans cet environnement. Selon certains modèles, les représentations spatiales sont implémentées dans des réseaux attracteurs qui correspondent à des assemblées de neurones fortement connectés entre eux

(Leutgeb et al., 2005b). Les réseaux attracteurs ont des propriétés comme la pattern completion qui permet au cerveau de maintenir des représentations stables malgré les changements se produisant dans l'environnement et comme la pattern separation qui permet au cerveau de résoudre les problèmes de chevauchement de pattern et donc d'interférence d'un environnement sur un autre. Dans cette perspective, le fait que l'effet de l'interférence par l'environnement nouveau sur l'environnement familier soit spécifique de *zif268*, suggère son implication dans les mécanismes de plasticité synaptique soulignant le renforcement des assemblées de neurones pendant l'apprentissage, et donc dans la formation et le maintien de la mémoire à long terme. L'interférence représentée par le cercle serait le révélateur d'une faille (d'un défaut) dans le renforcement du réseau attracteur représentant l'environnement familier carré. De manière intéressante, cet effet interférant n'est que transitoire puisqu'il n'est observé que lors des deux premières séquences, et ensuite disparaît. De plus, cet effet n'a pas pu être reproduit quand l'animal est exposé à un second nouvel environnement, comme si seulement quelques expositions au nouvel environnement avaient produit un effet de stabilisation persistante et générale de tout le réseau hippocampique.

Une deuxième découverte est que la délétion de *zif268* altère la réactivation de la représentation du nouvel environnement après un long délai (24 h), mais pas après un délai court (1 h). Le jour 2, même si l'activité des cellules de lieu est dégradée dans l'environnement familier chez les souris mutantes *zif268*, comme chez les souris contrôles, nous avons trouvé un plus grand changement chez les souris *zif268* que chez les souris contrôles pour l'environnement nouveau. Les souris *zif268* réactivent en effet moins bien la représentation formée dans l'environnement nouveau circulaire. Cependant, nous avons vu que cet effet ne résulte pas du déficit de stabilité observé pendant la ré-exposition à l'environnement familier de la session 4.

Donc, nos résultats fournissent la preuve que *zif268* est un gène impliqué dans le maintien à long terme - mais pas à court terme - des représentations spatiales des cellules de lieu hippocampiques. Nos résultats sont à mettre en parallèle avec des données récentes montrant la perturbation de la maintenance de la phase tardive de la PLT et les déficits de la mémoire à long terme des souris mutantes *zif268* dans de nombreuses tâches spatiales et non spatiales (Jones et al., 2001).

Nos résultats sont aussi cohérents avec les études qui montrent qu'en manipulant les différents éléments de la voie de signalisation sous-tendant l'induction de la PLT et son maintien, la décharge des cellules de lieu est affectée. Par exemple, les souris présentant une mutation de la CaMKII, montrent un déficit de PLT et des

performances spatiales altérées (Silva et al., 1992, 1992a) et ont des champs d'activité dégradés et instables (Rotenberg et al., 1996 ; Cho et al., 1998). D'une manière intéressante, le blocage des récepteurs NMDA par le CPP (antagoniste NMDA), et la diminution de la protéine kinase A chez des souris mutantes R(AB) ont des effets remarquablement similaires à ceux trouvés dans notre étude. A chaque fois, la formation d'une représentation dans un nouvel environnement (remapping) est normale et la nouvelle représentation est stable après un délai de 1 heure, mais pas après 24 heures (NMDA : Kentros et al., 1998 ; PKA : Rotenberg et al., 2000). Donc nos données appuient l'idée que la stabilité à long terme des représentations des cellules de lieu résulte de l'activation de la cascade dépendante du récepteur NMDA, impliquant la protéine kinase A (PKA) et l'expression du gène *zif268*, ce qui est cohérent avec les études qui montrent que l'induction du gène *zif268* dépend de l'activation de la PKA (Ginty et al., 1991 ; Simpson et Morris, 1995). Il est donc plausible que les éléments de la voie de signalisation responsables de la maintenance de la PLT soient aussi impliqués dans la stabilisation à long terme des représentations des cellules de lieu (Lynch, 2004 pour une revue). Selon des études récentes, l'activation de la PKA, qui est dépendante du récepteur NMDA (et d'autres protéines comme la PKC et CaMKII), serait corrélée à la transcription de *zif268* et à l'activation des MAPK/ERK (kinase) et de CREB (Davis et al., 2000). De plus, à la fois MAPK/ERK et CREB joueraient un rôle dans la mémoire de reconnaissance à long terme, mais pas à court terme (Bozon et al., 2003). Ensemble, ces résultats suggèrent fortement que les mécanismes de plasticité synaptique impliqués dans la stabilisation d'une nouvelle carte hippocampique partagent des éléments communs avec les mécanismes de la plasticité synaptique impliqués dans la PLT. Cependant, il y a un effet de la délétion de *zif268* qui n'avait jamais été décrit dans les études sur NMDA et PKA : celui de l'interférence de la formation de la représentation du nouvel environnement sur la représentation de l'environnement familier, suggérant un déficit dans la stabilité de la représentation familière. Par conséquent, il est possible que *zif268* soit important pour la stabilisation à long terme de la représentation des cellules de lieu, même après des expositions répétées à l'environnement. En considérant le lien potentiel entre la décharge des cellules de lieu, la PLT et les performances de la mémoire, un tel effet est probablement lié à des déficits de mémoire à long terme. Pourtant, Bozon et collaborateurs (2003) n'avaient pas trouvé de déficit de mémoire de reconnaissance après un sur-apprentissage de 8 sessions dispersées sur 6 heures dans un nouvel environnement (Bozon et al., 2003). Cependant, la dynamique temporelle de notre sur-apprentissage n'est pas tout à fait comparable, puisqu'elle

se base sur une session d'entraînement par jour pendant 3 semaines, et tous les jours suivants jusqu'à trouver une cellule de lieu. Il est possible que le pattern de distribution des sessions d'entraînement soit important pour l'encodage de l'environnement et pourrait expliquer les différences de rétention de mémoire. Le protocole de sur-apprentissage que nous avons utilisé n'était peut être pas aussi efficace que le celui utilisé par Bozon et al. (2003), ce qui est paradoxal puisqu'on sait que de longs intervalles entre les sessions permettent un meilleur encodage et une mémoire plus robuste que de courts intervalles (Spear, 1978 ; Genoux et al., 2002). Ou bien peut être que l'instabilité étant extrêmement transitoire, elle pourrait très bien avoir des effets très limités ou même aucun effet sur les performances de la mémoire. C'est ce que nous avons d'ailleurs tenté de vérifier dans une tâche de détection d'un changement spatial, avec un protocole respectant les mêmes délais temporels que dans l'étude électrophysiologique, pour voir si nous pourrions observer, à un niveau comportemental, les effets de l'interférence du nouvel environnement sur l'environnement « familier » observés dans l'étude électrophysiologique (les données sont en cours d'analyse et ne sont donc pas présentées dans cette thèse).

L'altération que nous décrivons n'a lieu que de façon transitoire, puisque le déficit dans le maintien a été observé seulement lors des deux premières séquences, mais pas ensuite. Cette dynamique temporelle suggère qu'il y a des processus compensatoires qui permettent de surmonter l'absence de *zif268* et de restaurer un état stable de la mémoire. Un des mécanismes possibles pourrait être l'activation des autres membres de la famille *Egr*, qui sont caractérisés par une forte homologie de structure dans leur partie se liant à l'ADN (doigts de zinc). Comme cela a été suggéré par Bozon et al. (2003), *Krox20* est un candidat possible pour compenser l'absence de *zif268* dans le cas d'un sur-apprentissage, ou comme dans notre étude, dans le cas d'une exposition répétée et étendue à l'environnement. En effet, la protéine *Krox20* est toujours présente à 24 heures après l'induction de la PLT (la protéine *zif268* n'est plus présente environ 8 heures après l'induction de la PLT), et requiert une stimulation cellulaire plus importante pour être activée (Williams et al., 1995), ce qui lui offre des propriétés complémentaires de celles de *zif268*. Il est possible que *Krox20* soit activé, aussi, suite aux expositions répétées au nouvel environnement circulaire, ce qui compenserait l'absence de *zif268* pour stabiliser sur le long terme la représentation des cellules de lieu.

En accord avec les études précédentes utilisant le modèle de souris *zif268* KO, nos résultats appuient l'hypothèse qui établit un lien entre *zif268*, la PLT, et l'expression de la mémoire spatiale par les cellules de lieu. Nos résultats

suggèrent donc l'intervention des mécanismes de la PLT dans la stabilisation des représentations des cellules de lieu.

Jones et al. (2001) ont démontré des déficits de PLT dans le gyrus denté chez des souris *zif268* in vivo libres de leur mouvement. En revanche, comme les cellules de lieu ont été enregistrées dans CA1, il est maintenant nécessaire de démontrer que le déficit des cellules de lieu est associé à un déficit de PLT dans CA1 chez les souris mutantes *zif268*. D'autres travaux devraient aussi être nécessaires pour clarifier la question d'une corrélation spécifique entre la PLT dans les différentes régions hippocampiques et la présence de *zif268* dans ces régions. En effet, des études ont montré des résultats contradictoires à ce sujet. Par exemple, French et al. (2001) ont montré que *zif268* n'était pas modulé dans CA1 par une PLT induite au niveau de la collatérale de Schaffer chez des rats anesthésiés, tandis que d'autres études montrent une expression de *zif268* dans CA1 après l'induction de la PLT sur des tranches d'hippocampe (Mackler et al., 1992 ; Roberts et al., 1996). Cependant, dans l'étude de French et al., *zif268* étant fortement exprimé de façon constitutive dans cette région, il est possible que les techniques d'hybridation in situ utilisées ne soient pas assez sensibles pour détecter une faible différence dans l'expression. Il serait donc intéressant de mesurer à la fois la PLT et l'expression de *zif268* dans CA1 chez les souris contrôles, et examiner la PLT dans CA1 des souris mutantes.

La flexibilité est une caractéristique importante du système des cellules de lieu, impliquant divers processus de plasticité synaptique qui permettent à la fois la formation rapide d'une nouvelle représentation et le maintien à long terme d'une représentation familière. La plasticité à long terme et à court terme impliquent des mécanismes moléculaires distincts. Nos résultats apportent des preuves supplémentaires à l'hypothèse que le maintien à long terme des représentations spatiales dans l'hippocampe requiert des modifications synaptiques (similaires à ceux impliqués dans la PLT) basées sur l'activation du récepteur NMDA (Shapiro, 2001), et démontre l'implication de l'expression de *zif268* dans ces processus. En tant que gène ubiquitaire dans le cerveau, *zif268* apparaît désormais comme un élément clef d'une voie moléculaire universelle menant à la formation de la mémoire à long terme.

Chapitre 8

Le gène *zif268* est nécessaire à la re-consolidation de la représentation spatiale après la réactivation de cette représentation (étude n°3)

8.1. Introduction

Dans l'étude électrophysiologique que nous venons de décrire, les résultats de la ré-exposition à l'environnement familier après l'exposition au nouvel environnement montrent qu'une large proportion de cellules des souris *zif268* ne réactive pas la représentation familière. Le fait que ces cellules présentent un remapping rotationnel dans l'environnement familier, suggère une fragilité dans la stabilité de la représentation de cet environnement. Ce résultat est d'autant plus intrigant que pour pallier au déficit de consolidation des souris *zif268*, nous avons réalisé un sur-apprentissage de l'environnement carré, qui aurait dû mener à la stabilité de la mémoire de cet environnement. En effet, selon le paradigme de sur-apprentissage, qui consiste en un apprentissage distribué et prolongé, le déficit de consolidation peut être compensé, ce qui a été observé dans au moins deux tâches expérimentales: celle de la piscine de Morris (Jones et al., 2001) et celle de la reconnaissance d'objets (Bozon et al., 2003)). Ces résultats intéressants nous ont amenés à nous questionner sur l'origine de la fragilité de la mémoire de cet environnement, et notamment sur la qualité de la consolidation de cet environnement chez les souris mutantes pour *zif268*.

La consolidation est le processus qui convertit une trace mnésique d'un état labile (mémoire à court terme) en un état permanent, stable (mémoire à long terme). Ce processus dépend de l'activation de la transcription de nombreux gènes, comme par exemple *zif268* (Alberini et al., 1994 ; Bailey et al., 1996 ; Freeman et Rose, 1999 ; Guzowski, 2002), et en particulier de la synthèse protéique (Davis et Squire, 1984 ; Quevedo et al., 1999). Le fait que les souvenirs consolidés soient permanents a été remis en question. Un modèle de la mémoire proposé par Lewis (1979) et récemment développé par différents auteurs (Przybylski et Sara, 1997 ; Sara, 2000 ; Nader, 2003 ; Alberini, 2005) suggère que la trace mnésique peut se trouver soit dans un état actif et labile, soit dans un état inactif et stable. Donc, pendant l'acquisition initiale, mais aussi à chaque fois, quand une trace est réactivée, celle-ci redevient labile et est soumise de nouveau à des processus de consolidation, comme la synthèse protéique, si elle veut revenir dans un état

inactif et stable (Lewis, 1979 ; Nader et al., 2000 ; Sara, 2000 ; Nader, 2003). Ce processus a été nommé reconsolidation.

Bozon et al. (2002) ont déjà montré que les souris mutantes *zif268*, dont les performances mnésiques ont été évaluées dans une tâche de détection d'un changement spatial 24 heures après un apprentissage, ont des déficits de consolidation de la mémoire spatiale. Une autre étude a aussi montré que les souris mutantes *zif268* présentent des déficits de reconsolidation dans une tâche impliquant la mémoire de reconnaissance des objets (Bozon et al., 2003).

Cependant, aucune étude ne s'est encore intéressée à l'implication du gène *zif268* dans des déficits de reconsolidation impliquant la mémoire spatiale.

Nous avons donc testé la reconsolidation des animaux dans une tâche faisant appel à la mémoire de la configuration spatiale des objets pour savoir si le déficit de re-consolidation des souris *zif268*^{-/-} trouvé dans la tâche de reconnaissance d'objets était généralisable à d'autres formes de mémoire et notamment à celle de la mémoire spatiale. Etant donné que chez les souris mutantes hétérozygotes (*zif268*^{+/-}), plus la demande spatiale imposée par la tâche est importante, plus les souris présentent des déficits sévères de mémoire à long terme (Bozon et al., 2002), il serait plausible de retrouver les mêmes déficits, voire des déficits plus importants dans un protocole de reconsolidation adapté à la tâche de mémoire d'un changement spatial que dans la tâche de mémoire des objets.

Dans cette étude, nous cherchons à savoir si *zif268* est engagé dans les processus de la reconsolidation de la mémoire spatiale. Cette étude nous permettra aussi de mieux comprendre les déficits de stabilité des représentations spatiales spécifiquement rencontrés chez les souris *zif268* dans l'environnement « familier », et si ces déficits découlent plutôt des mécanismes sous-tendus par la consolidation ou par la reconsolidation.

8.2. Matériels et méthodes

8.2.1. Animaux

Description des animaux *zif268*^{-/-} dans « matériels et méthodes communs ». Un total de 30 souris a été utilisé dans cette expérience : 3 groupes différents de souris pour les 3 conditions (description des 3 conditions dans la partie suivante), chaque groupe contenant 5 souris contrôles et 5 souris mutantes *zif268*.

8.2.2. Tâche et protocole expérimentaux

La tâche de reconnaissance d'objets se base sur un comportement spontané de l'animal à explorer la nouveauté. Dans une session standard, l'animal est placé dans une arène dans laquelle il est exposé brièvement à deux objets différents (on a vérifié qu'il ne présente pas de préférence spontanée ni pour l'un ni pour l'autre). Après des délais variables (court terme ou long terme), un des objets est remplacé par un nouvel objet. Si la mémoire des objets de la session initiale est altérée, l'animal passera autant de temps à explorer les deux objets, au lieu d'aller préférentiellement vers l'objet nouveau. Cette tâche présente l'intérêt d'être rapidement apprise et de ne pas nécessiter de renforcement explicite. Initialement décrite par Ennaceur et collaborateurs (1997), cette tâche, fréquemment utilisée pour tester la mémoire de reconnaissance des objets à court terme et à long terme chez les rongeurs, connaît des variantes. Nous utilisons dans notre expérience une variante permettant de tester la mémoire de détection d'un changement spatial. Dans cette tâche, l'objet n'est plus remplacé, mais il est déplacé. L'animal, s'il se souvient de la configuration spatiale de la session standard, passera donc plus de temps à explorer l'objet déplacé.

Les souris ont été testées dans une arène carrée (40 x 40 x 35 cm de hauteur), située dans une pièce avec un éclairage atténué, et avec une radio qui permet d'avoir un bruit de fond constant. Deux objets différents sont placés dans l'arène. Chaque objet est constitué d'un assemblage de trois petites pièces de lego collées, formant un objet de 10 cm de hauteur. Les deux objets sont donc comparables pour la couleur, la matière et la forme, (ce qui limite la préférence spontanée pour un objet) tout en étant bien distincts. Une carte est également placée sur un des murs de l'arène (40 cm) afin d'aider les animaux à former une représentation spatiale de la localisation de chaque objet dans l'espace.

L'arène et les objets sont nettoyés à l'alcool entre chaque essai afin d'éliminer les indices olfactifs. Les souris ont d'abord été familiarisées à l'arène carrée, vide (sans objet et sans carte) durant 20 minutes par jour, pendant 2 jours. Ensuite, le jour 1 des expériences, les souris contrôles et les souris mutantes *zif268* sont soumises à un sur-apprentissage qui consiste en quatre blocs de deux sessions consécutives de 5 minutes d'exploration des deux objets. Les deux essais à l'intérieur d'un bloc sont séparés de 5 minutes, et les blocs entre eux sont séparés de 90 minutes. Dans la **condition 1** qui représente une condition contrôle, la rétention est testée 48 heures après la fin du sur-apprentissage, en remplaçant les souris dans l'arène pour une session de 5 minutes, un des deux objets ayant été déplacé (l'étoile) (figure 8.1). La mesure du temps passé à explorer chaque objet a

été mesuré, et l'exploration de l'objet déplacé a été exprimé en un pourcentage de temps passé à explorer cet objet ($((\text{temps passé à explorer l'objet déplacé} / \text{temps passé à explorer l'objet déplacé} + \text{temps passé à explorer l'objet non déplacé}) \times 100)$). Si le pourcentage est autour de 50%, cela signifie que l'animal a passé autant de temps à explorer l'objet déplacé que l'objet non déplacé. Le critère d'exploration repose sur une exploration active de l'objet, puisqu'on considère que l'animal l'explore lorsqu'il le touche avec son museau ou avec ses vibrisses.

Dans les **conditions 2 et 3**, une session de ré-activation a été interposée entre le sur-entraînement et le test de rétention (figure 8.1). Cette session, effectuée 24 heures après la fin du sur-apprentissage, a consisté à replacer l'animal dans l'arène pour une session de 5 minutes d'exploration des objets placés au même endroit que pendant la session standard, ce qui est supposé réactiver le souvenir de l'environnement appris. Ensuite, le test de rétention est soit effectué 24 heures après la session de ré-activation dans la **condition 2**, soit tout de suite après (10 minutes) dans la **condition 3** (figure 8.1).

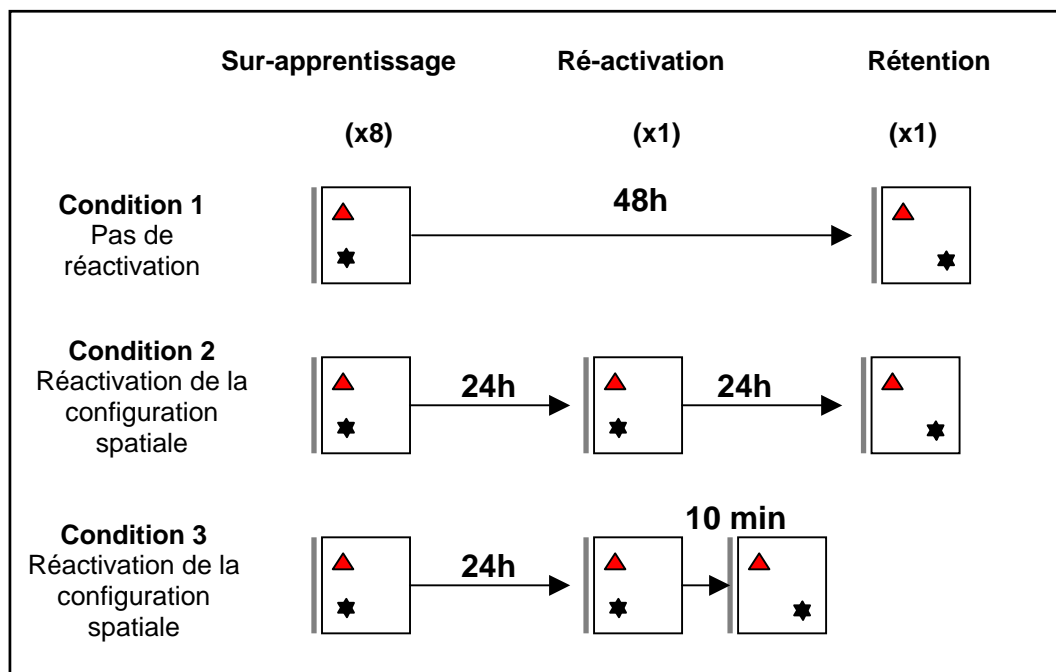


Figure 8.1. Protocole expérimental présentant les trois conditions.

8.3. Analyse des données

L'analyse de variance (ANOVA) et le test t de Student ont été utilisés pour l'analyse des données.

8.4. Résultats

Déterminer le rôle de *zif268* dans la re-consolidation représente une difficulté puisque cela nécessite que les souris *zif268* mémorisent les éléments de la tâche aussi bien que les contrôles. Nous savons cependant que le déficit de consolidation peut être compensé par un apprentissage distribué et prolongé (Jones et al., 2001 ; Bozon et al., 2003). Nous avons d'abord examiné (**condition 1**) si les souris mutantes *zif268* pouvaient former une mémoire à long terme d'une configuration spatiale d'objets en les exposant de façon répétée aux objets lors d'un apprentissage distribué, ce qui représenterait le pré-requis pour tester ensuite la reconsolidation. Les souris ont été placées dans une arène contenant deux objets formant une configuration spatiale particulière avec la carte. Les souris explorent librement l'environnement pendant 4 blocs de deux sessions de 5 minutes, avec 90 minutes entre les blocs, ce qui représente un apprentissage intensif. Après un délai de 48 heures, les souris sont replacées dans l'environnement avec un des deux objets ayant été déplacé. Le pourcentage de temps à explorer l'objet déplacé par rapport à l'objet non déplacé est utilisé comme mesure de la mémoire. Les souris mutantes *zif268* ($n = 5$) et les souris contrôles ($n = 5$) montrent toutes les deux une préférence dans l'exploration de l'objet déplacé (figure 8.2A) (un test t de comparaison de moyenne à la valeur de référence 0.5, correspondant au niveau de chance, montre qu'il existe une différence pour les contrôles : $m = 0.77 \pm 0.07$, $p < 0.018$, ainsi que pour les mutantes : $m = 0.80 \pm 0.04$, $p < 0.002$). De plus, l'ANOVA montre qu'il n'y a pas de différence entre les groupes ($F_{1,8} = 0.1289$; $p > 0.05$). Ces résultats montrent que les deux groupes de souris se souviennent de la configuration spatiale des objets qu'elles ont expérimentée pendant l'apprentissage (si la mémoire de la configuration des objets était altérée, elles auraient passé autant de temps à explorer l'objet déplacé et le non déplacé).

D'après ces résultats, nous sommes en mesure d'évaluer l'effet d'une session de réactivation interposée entre l'apprentissage et le test de rétention dans la condition 2. Les souris mutantes et contrôles (un autre groupe), après avoir appris la configuration standard d'objets le jour 1, ont été autorisées à explorer le jour 2 la configuration standard lors d'une seule session de réactivation de 5 minutes (pendant la session de réactivation, les deux groupes explorent autant les deux

objets, car ils tous les deux à des positions familières : pas de différence entre les groupes, $p > 0.05$, données non présentées). La mémoire à long terme post-réactivation a été testée 24 heures plus tard (jour 3) (**condition 2**) lors d'une session de 5 minutes dans laquelle un objet a été déplacé (figure 8.2B). Les souris contrôles ($n = 5$) ont plus exploré l'objet déplacé que le non déplacé (un test t de comparaison à une valeur de référence (0.5) montre que le niveau d'exploration de l'objet déplacé est supérieur au niveau de chance : $m = 0.73 \pm 0.07$, $p < 0.033$), ce qui démontre des performances similaires de mémoire que lorsqu'il n'y a pas eu interposition de la réactivation. Par contre, les souris mutantes ($n = 5$), explorent autant l'objet déplacé que l'objet non déplacé (un test t de comparaison à une valeur de référence (0.5) montre que le niveau d'exploration de l'objet déplacé n'est pas différent du niveau de chance : $m = 0.51 \pm 0.04$, $p = 0.705$). L'ANOVA montre une différence entre les groupes ($F_{1,8} = 6.52$; $p = 0.033$).

Il est intéressant de noter que quand la mémoire à court terme post-réactivation a été testée 10 minutes après la session de réactivation (**condition 3**), à la fois les souris contrôles ($n = 5$), et les mutantes ($n = 5$) ont exploré préférentiellement l'objet déplacé, avec un taux significativement plus important que le niveau de chance (un test t de comparaison de moyenne par rapport à la valeur de référence 0.5, montre qu'il existe une différence pour les contrôles : $m = 0.76 \pm 0.05$, $p = 0.006$, ainsi que pour les mutantes : $m = 0.85 \pm 0.04$, $p = 0.001$) (figure 8.2C). Il n'y a pas de différence entre les deux groupes ($F_{1,8} = 1.745$; $p = 0.22$). Le fait que la mémoire à court terme post-réactivation soit intacte, nous permet d'exclure la possibilité que le déficit 24 heures après la réactivation soit dû à des effets non spécifiques, tels que des déficits moteurs ou des déficits dans la tendance spontanée à explorer la nouveauté.

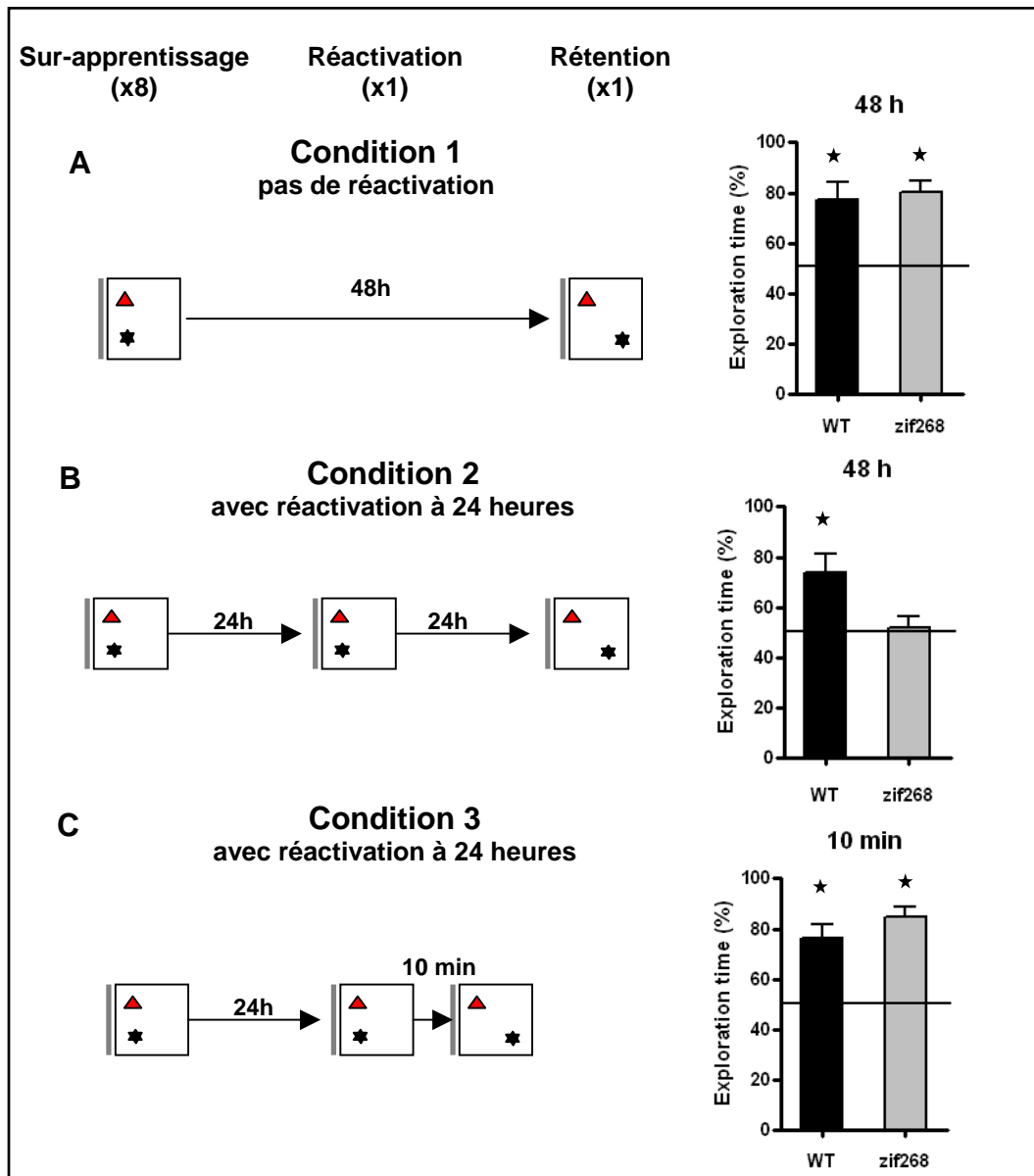


Figure 8.2. L'inactivation de zif268 chez les souris mutantes altère la reconsolidation de la mémoire spatiale. La performance de rétention dans les trois conditions est exprimé comme le pourcentage de temps passé à explorer le nouvel objet sur le temps total d'exploration des deux objets. **A.** L'inactivation de zif268 n'affecte pas la mémoire spatiale à long terme dans le paradigme de sur-apprentissage. **B. et C.** Une brève ré-exposition à la configuration d'objets familière 24 heures après l'entraînement, n'affecte pas la mémoire spatiale à court terme post-réactivation, mais affecte la mémoire spatiale à long terme post-réactivation chez les souris mutantes zif268. * $p < 0.05$ (Test t). Les barres d'erreur représentent l'erreur standard à la moyenne (S.E.M.).

8.5. Discussion

Des études récentes montrent que zif268 joue un rôle essentiel dans la consolidation (Jones et al., 2001). En effet, les souris mutantes zif268, contrairement aux souris contrôles, sont incapables de se souvenir de l'identité des objets ou de la configuration d'objets 24 heures après un apprentissage en un seul essai. Cependant aucune étude ne s'est encore intéressée spécifiquement la re-

consolidation de la mémoire spatiale dans une tâche de détection d'un changement spatial.

Malgré les déficits de consolidation des souris mutantes *zif268*, nous avons montré que ces souris sont capables de former une mémoire de la configuration spatiale des objets, dans des conditions de sur-apprentissage à cette configuration, et que l'inactivation de *zif268* n'affecte pas la récupération de l'information spatiale. Cependant, après une seule réactivation à la configuration d'objets, nous avons montré que les souris mutantes *zif268* présentent des déficits de rétention à long terme, ce qui suggère qu'une mémoire stable et consolidée peut redevenir labile et que *zif268* est impliqué dans la reconsolidation de la mémoire spatiale.

Nos résultats sont à mettre en parallèle avec ceux de Bozon et collaborateurs (2003), qui avaient montré des problèmes de reconsolidation dans une tâche impliquant la mémoire de reconnaissance d'objets. Nous mettons en évidence le rôle de *zif268* dans différentes formes de mémoire, ce qui suggère que *zif268* a un rôle dans les processus généraux qui permettent de reconsolider le souvenir.

Nos résultats avec ceux de Bozon et al. (2003), sont cohérents avec d'autres études qui ont montré que la réactivation d'une mémoire consolidée est associée à l'augmentation de l'expression de *zif268* dans différentes structures cortico- limbiques (Hall et al., 2001 ; Thomas et al., 2002).

Une question essentielle, d'ailleurs toujours discutée, est de savoir si ce sont les mêmes mécanismes qui sous-tendent les processus de consolidation et de reconsolidation, car certains travaux indiquent que la synthèse protéique est une étape cruciale à la fois pour la consolidation initiale et pour la reconsolidation (Dudai et Eisenberg, 2004 ; Alberini, 2005), tandis que d'autres études montrent qu'elle est cruciale uniquement pour la consolidation (Taubenfeld et al., 2001 ; Hernandez et al., 2002 ; Bahar et al., 2004 ; Salinska et al., 2004). Etant donné que consolidation et reconsolidation semblent pouvoir impliquer des mécanismes différents, il était important de se demander si la reconsolidation après réactivation d'un souvenir induit un processus dépendant de *zif268* similaire à celui requis pour la consolidation.

A partir de l'ensemble de ces résultats (les nôtres et ceux de Jones et al., 2001 et de Bozon et al., 2003), nous pouvons faire l'hypothèse que le gène *zif268* serait un élément commun à la formation de la mémoire et à la re-stabilisation d'un souvenir déjà consolidé après son rappel, ce qui nous permettrait d'inférer que la consolidation et la reconsolidation partagent des éléments communs. Cependant, il faut être prudent car les deux situations comportementales, celle qui teste la consolidation et celle qui teste la reconsolidation, ne sont pas entièrement équivalentes, puisque la première teste la rétention suite à une seule exposition au

contexte environnemental, et la seconde teste la rétention suite à une exposition répétée du contexte lors d'un sur-apprentissage. La consolidation et la reconsolidation ne sont donc pas comparables. On peut alors se demander si zif268 aurait été nécessaire pour la reconsolidation dans des conditions standard d'apprentissage, c'est à dire sans sur-apprentissage. Le meilleur moyen de répondre à cette question aurait été de pouvoir inactiver le gène zif268 seulement après la réactivation et de tester la reconsolidation des souvenirs dans les mêmes conditions que pour tester la consolidation (c'est à dire avec une seule session d'apprentissage). Ce test pourrait être envisageable en utilisant la méthode des souris K.O. inductibles ou encore en injectant des ODN, OligoDésoxyNucléotides antisens dirigés contre les ARNm de la protéine zif268, empêchant la synthèse de la protéine zif268 au moment désiré. Dans notre expérience et celle de Bozon et al. (2003) sur la reconsolidation, nous avons utilisé une procédure de sur-apprentissage pour contourner la nécessité de zif268 pour la consolidation initiale. Dans cette situation particulière, la mémoire initiale s'est quand même formée en l'absence de zif268. Le mécanisme compensatoire impliqué n'est toujours pas connu, mais il serait possible d'imaginer qu'un autre membre de la famille *Egr* des facteurs de transcription, comme *Krox20* (Williams et al., 1995) pourrait être impliqué, étant donné la forte homologie de structure dans la zone qui se fixe aux gènes cibles (doigts de zinc) (Swirnoff et Milbrandt, 1995). Ce mécanisme compensatoire pourrait aussi provenir de l'action d'autres IEG (comme *Arc/Arg3.1*), dont on a montré récemment les mêmes implications que zif268 dans la consolidation (Plath et al., 2003).

Dans une autre étude, Lee et al. (2004) ont montré que, grâce à l'injection dans l'hippocampe dorsal d'ODN dirigés contre les ARNm de la protéine zif268, zif268 est nécessaire à la reconsolidation, mais pas à la consolidation dans une tâche de conditionnement à la peur, qui consiste à faire associer à l'animal un contexte et un choc électrique. Ils ont montré aussi que BDNF est nécessaire pour la consolidation mais pas pour la reconsolidation. Cette double dissociation suggère que la consolidation et la reconsolidation d'un conditionnement à la peur requièrent des processus indépendants. Cependant, ces résultats sont contradictoires avec les nôtres concernant la consolidation. Il est probable que les processus mnésiques impliqués dans un conditionnement à la peur ne soient pas les mêmes que ceux impliqués dans une tâche d'exploration d'objets, dans laquelle les animaux ne reçoivent pas de choc électrique.

Artinian et al. (2007) qui utilisent une tâche expérimentale proche de celle utilisée dans nos expériences, ont des résultats cohérents avec les nôtres. Ils montrent, en effet, que l'injection d'un inhibiteur de la synthèse protéique (anisomycine) dans

CA3 juste après une réactivation unique suffit à perturber les performances des animaux dans la version allocentrée de la tâche de la piscine de Morris. Leur travail démontre qu'une simple exposition à l'environnement spatial expérimental suffit à réactiver le souvenir de l'emplacement spatial de la plate-forme, et donc à le rendre labile, ce qui nécessite la reconsolidation de ce souvenir par la synthèse protéique de novo.

Malgré l'hétérogénéité des résultats, il est concevable que zif268 soit impliqué dans les mécanismes communs à la consolidation et à la reconsolidation, et que ces mécanismes soient nécessaires après l'apprentissage initial ou après le rappel, pour la mise en mémoire de l'information à long terme ou pour sa disponibilité ultérieure.

Dans notre étude (**étude n°3**), nous avons montré que zif268 est impliqué dans la reconsolidation des souvenirs spatiaux. A la lumière de ces résultats, nous pouvons élaborer de nouvelles hypothèses pour expliquer l'instabilité observée dans le système des cellules de lieu dans l'environnement « sur-appris » (**article n°2**). Malgré l'entraînement qui a consisté à exposer l'animal de façon répétée et prolongée à l'environnement carré pour répondre au paradigme de sur-apprentissage, chaque ré-introduction de l'animal dans l'environnement carré (effectuée lors de la recherche d'une cellule de lieu), conduirait donc à réactiver la représentation, passant de l'état inactif (consolidé) à l'état actif. Cette représentation nécessiterait donc un processus de reconsolidation pour repasser dans l'état inactif en mémoire à long terme. Avant cela, la représentation redeviendrait labile et sensible à l'interférence (l'environnement cercle), à l'image de la mémoire à court terme. Dans notre expérience, chaque réintroduction des souris zif268 dans l'environnement carré serait l'équivalent de la réactivation 24 heures après le sur-apprentissage dans l'étude sur la mémoire de reconsolidation spatiale (**étude n°3**). Comme nous l'avons vu, cette session de réactivation à 24h conduit à remettre à zéro l'effet du sur-apprentissage chez les souris zif268, ce qui pourrait expliquer l'instabilité entre la session standard S2 et la session S4. Dans les expériences d'enregistrement, les résultats ne sont pas aussi extrêmes, car on n'observe pas une remise à zéro de la représentation, ce qui serait matérialisé par un remapping global. Nous observons un remapping rotationnel, ce qui suggère que la représentation est tout de même partiellement consolidée. Le fait aussi que l'on ne retrouve pas cette instabilité entre S2 et S4 après l'exposition à un deuxième nouvel environnement (triangle) suggère que la représentation de l'environnement carré est de plus en plus stable, et donc de moins en moins fragile face à l'interférence. Les données d'enregistrement des cellules de lieu chez les souris mutantes zif268, réinterprétées en fonction des résultats obtenus dans

l'expérience sur la reconsolidation, suggèrent que la représentation du carré à long terme, malgré l'apprentissage intensif, est plus vulnérable face à l'interférence à cause des réactivations de cet environnement. Cette fragilité n'est révélée que chez les souris mutantes, lors du test de stabilité à court terme de la représentation dans le carré, juste après l'exposition au nouvel environnement (interférence), car les processus de consolidation font défaut chez ces souris. Cependant, grâce à la répétition des expositions dans le carré et/ou grâce à l'expérience du changement, la représentation du carré peut devenir aussi stable que chez les contrôles, ce qui suggère la mise en place de mécanismes compensatoires.

Cinquième partie

Discussion générale

« Si avant d'entreprendre un travail, nous nous représentons toutes les difficultés qu'il nous réserve, nous ne l'entamerions sans doute jamais. Mais une fois le résultat obtenu, il demande à être examiné sous un autre angle et situé dans un contexte plus vaste. »

Konrad Lorenz, dans *les fondements de l'éthologie*.

Deux modèles d'étude, une seule vérité : les cellules de lieu

J'ai eu l'opportunité au cours de ma thèse, d'étudier l'activité des cellules de lieu de l'hippocampe chez deux modèles de rongeurs dans la même tâche expérimentale, c'est à dire dans une tâche d'exploration au cours de laquelle l'animal est libre de se déplacer dans une arène.

Ce que l'on remarque en premier lieu en regardant les cartes d'activité des cellules de lieu enregistrées chez le rat et chez la souris, c'est leur ressemblance frappante, au point qu'il serait difficile de décider quelle carte est extraite de quel animal comme nous pouvons le constater sur la figure D1.

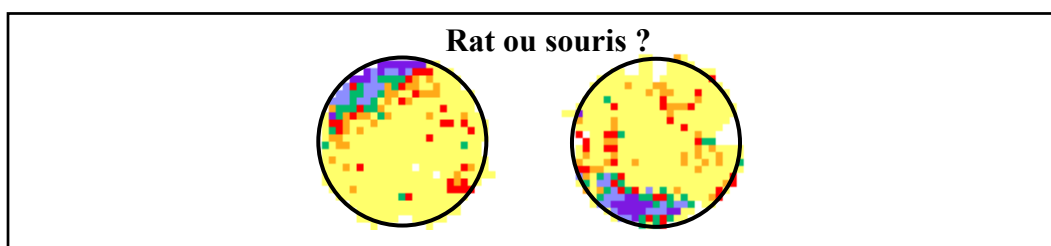


Figure D1. La carte d'activité de la cellule enregistrée chez la souris est à gauche et celle de la cellule enregistrée chez le rat est à droite...ou l'inverse ?

Rat, souris: une différence de taille...

Derrière ces ressemblances, se cachent tout de même quelques différences. Des travaux ont montré que sous les mêmes conditions, c'est à dire lors de l'exploration libre d'un environnement, les champs d'activité des souris normales sont souvent spontanément instables sur le long terme (au delà de 6 heures), alors qu'ils ne le sont pas chez le rat (Rotenberg et al., 2001 ; Kentros et al., 2004). Selon Kentros et al. (2004), l'instabilité des champs peut être compensée par l'engagement des animaux dans une tâche spatiale, comme par exemple apprendre à localiser une aire virtuelle dans l'environnement dans le but de bloquer une alarme et une lumière intense qui représentent des stimuli aversifs. Les auteurs concluent que l'instabilité observée chez les souris serait imputable aux processus attentionnels et que ces processus seraient capables de moduler par des processus « top-down » la stabilité des représentations, en aidant le passage de la plasticité à court terme à la plasticité à long terme. Dans l'étude concernant l'enregistrement des cellules de lieu des souris mutantes *zif268* (étude n°2), pour se prémunir de cette instabilité observée chez des souris normales, nous avons ajouté un objet à l'environnement afin de stimuler le niveau général d'attention que l'animal peut porter à son environnement. Cette simple manipulation pourrait expliquer qu'on ait obtenu un niveau correct de stabilité des représentations à long terme chez les souris contrôles.

Ces considérations n'expliquent cependant pas pourquoi il existe une différence dans la stabilité des champs d'activité entre les deux espèces. Cette différence pourrait bien refléter des différences neuroéthologiques entre les deux espèces : les souris feraient moins attention aux indices distants de l'environnement que les rats. Plusieurs observations étayaient cette remarque. Quand Cho et collaborateurs (1998) soumettent les souris à un conflit entre les indices distants et les indices proches lors d'une double rotation entre ces deux types d'indices, ils trouvent que les champs d'activité sont majoritairement contrôlés par les indices proximaux, ce qui est rarement le cas chez les rats dans des tâches équivalentes (Shapiro et al., 1997). D'autres travaux mettent en évidence les moins bonnes performances des souris par rapport aux rats dans des tâches de navigation spatiale comme la piscine de Morris (Whishaw, 1995), qui par définition fait appel à la triangulation des repères distaux. Même si certains auteurs évoquent des différences de comportement moteur pour expliquer ces différences, on peut raisonnablement penser qu'elles sont plutôt d'ordre cognitif, comme le suggère l'amélioration de la stabilité des champs lorsque les souris doivent résoudre une tâche spatiale par rapport à une « non tâche » d'exploration libre (Kentros et al., 2004).

Disposant de données chez les rats et chez la souris dans la tâche d'exploration libre, j'ai pu comparer les propriétés de décharge des cellules de ces deux espèces dans des conditions standard. Ce qui semble le plus éloquent, c'est que le contenu informatif des cartes d'activité de souris est deux fois plus faible que celui trouvé chez les rats. Le contenu informatif est un paramètre qui permet de rendre compte de la quantité d'information spatiale convoyée par les potentiels d'action émis par une cellule donnée. Plus le champ d'activité spatiale est réduit, avec un pic d'activité contrasté, plus le contenu informatif est important. Dans l'expérience réalisée chez le rat, nous incitons les animaux à se déplacer à la recherche de granulés de nourriture tombant aléatoirement sur le sol de l'arène, tandis que les souris n'ont pas besoin de récompense pour se déplacer correctement. La différence dans le contenu informatif pourrait être une conséquence de la différence dans l'aspect motivationnel lors de l'exploration de l'environnement. Or, Kentros et al. (2004) n'ont pas observé de différence de stabilité des champs entre un groupe de souris ayant été récompensé et un autre groupe non récompensé. Si l'aspect motivationnel n'a aucune influence sur la stabilité des champs, on peut imaginer qu'il n'influencerait pas non plus les propriétés de décharge. Les caractéristiques de décharge feraient donc plutôt partie d'une propriété intrinsèque du système des cellules de lieu, propre à chaque espèce, et éventuellement modulable par l'aspect attentionnel de la tâche.

Il est possible que ces différences fonctionnelles soient imputables aux différences anatomiques hippocampiques décrites entre le rat et la souris (partie II, 1.2.4) (Van Groen et al., 2003). Chez la souris, CA3 est innervé par la couche III superficielle du cortex entorhinal et non pas par la couche II superficielle, comme chez le rat. Ainsi, on peut supposer que les couches II et III convoient des types d'information différents chez le rat et chez la souris.

Dans l'ensemble, la comparaison entre les rats et les souris montre, que malgré quelques différences, la mémoire spatiale a un substrat neuronal qui est commun aux deux espèces. Les caractéristiques générales des cellules de lieu sont similaires, même si les souris semblent être dans un monde plus « immédiat » que le rat, à la fois spatialement car elles utiliseraient moins les repères appartenant à un cadre de référence distant et à la fois temporellement, car ses représentations spatiales sont moins robustes dans le temps.

Le fait de trouver des cellules aux propriétés comparables chez ces deux espèces, mais encore chez de nombreuses autres espèces comme la chauve souris, ou le singe (voir dans les annexes « cellules de lieu à travers la phylogénèse ») suggère que le système des cellules de lieu représente un invariant fonctionnel d'une espèce à l'autre, et que ce système constituerait le support des représentations de l'espace et la mémoire spatiale.

« Décider » dans l'environnement : qu'est-ce qui est familier, qu'est-ce qui est nouveau ?

Il est important pour un organisme d'associer ses expériences à un contexte, ce qui lui permet de prédire sur la base de son expérience passée, ce qu'une situation peut lui apporter afin qu'il puisse fournir la réponse la mieux adaptée possible.

Même si le mot « contexte » est souvent utilisé dans la littérature, il est encore difficile d'établir ce qu'il appréhende et comment il est représenté au niveau du cerveau. L'hippocampe pourrait être le support anatomique du concept de contexte, car les dommages de cette structure entraînent une généralisation anormale de l'apprentissage à de nouveaux contextes (Selden et al., 1991 ; Phillips et Ledoux, 1992 ; Kim et Fanselow, 1992).

L'énorme variété de configurations spatiales dans le monde naturel fait que l'utilisation de l'espace permet de définir avec une bonne fiabilité un contexte. Selon ces considérations, il est probable que la représentation de l'espace et la mémoire dépendante du contexte utilisent le même substrat neuronal. Les cellules

de lieu de l'hippocampe permettraient donc de conceptualiser la notion de contexte de façon rationnelle. Quand un animal est placé dans un environnement, le réseau de cellules qui a été associé à ce contexte particulier est activé, c'est à dire que les cellules de lieu représentant des endroits différents de l'environnement, vont décharger aux endroits appropriés. Samsonovich et McNaughton (1997) parlent de réactiver le bon « chart », qu'ils définissent comme étant la représentation du contexte au niveau de l'hippocampe (Samsonovich et Nadel, 2005). En rappelant un « chart » particulier, le système « décide » donc si l'animal se trouve dans un environnement particulier ou dans un autre. Cette décision résulte en partie de la mise en jeu de deux processus : la *pattern completion* et la *pattern separation*, qui ont des propriétés remarquables des réseaux attracteurs. Grâce à la présence de ces réseaux attracteurs, le système hippocampique peut produire de la *pattern completion* lorsque les entrées sensorielles sont incomplètes (Wills et al., 2005 ; Leutgeb et al., 2005a). Ainsi, des changements légers dans l'environnement peuvent être compensés, de telle sorte que la représentation de l'environnement initial est réactivé. Au contraire, si les changements de l'environnement sont trop importants, une telle *pattern completion* devient impossible, et une nouvelle représentation est formée grâce au processus de *pattern separation* (figure D2b).

L'expérience qui illustre le mieux la compétition entre ces deux processus est celle de Wills et al. (2005). Dans leur expérience (décrite en détail dans la partie 3.2.1), les deux environnements circulaire et carré sont familiers, et agissent donc comme des attracteurs. Les rats sont ensuite mis dans des formes intermédiaires entre le carré et le cercle dans un ordre aléatoire. Malgré les changements progressifs de l'environnement, les représentations « résistent » à ces faibles modifications en conservant le pattern de décharge trouvé dans le cercle ou celui trouvé dans le carré, jusqu'à un certain point de rupture, au niveau duquel toutes les cellules de lieu changent de façon abrupte et simultanée leur motif de décharge, passant de la représentation type carré à la représentation type cercle.

Cette étude montre d'abord la capacité du système à généraliser des environnements peu différents, qui permet de produire des représentations stables et robustes de l'environnement. Lorsque les deux environnements sont suffisamment différents, il y a un remapping qui signale qu'il y a un changement de contexte. Cette expérience a permis de mieux comprendre comment la notion de contexte est représentée par le système des cellules de lieu.

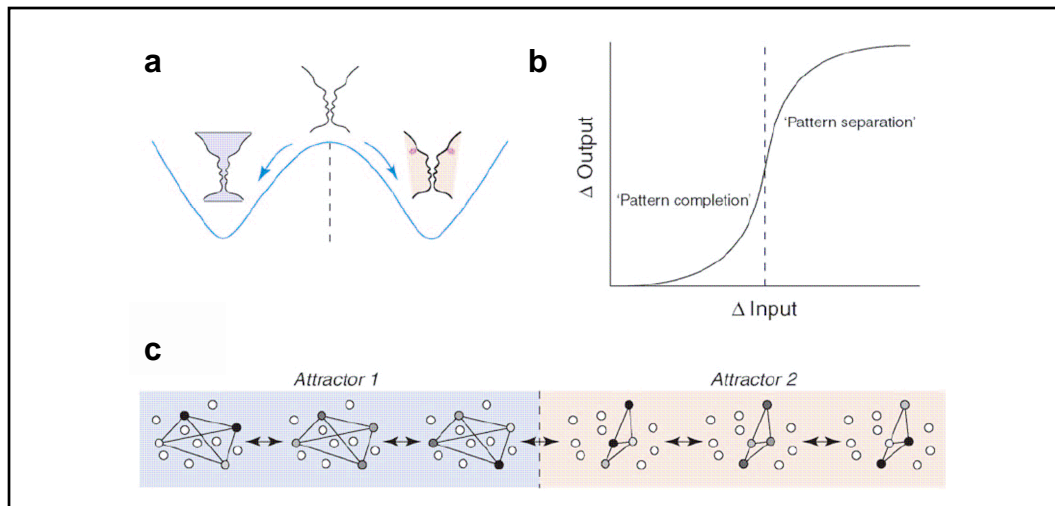


Figure D2. Etats attracteurs dans l'hippocampe. **a.** Illusion visuelle symbolisant les états attracteurs dans l'hippocampe. **b.** Les réseaux attracteurs seraient responsables de la transition brutale entre *pattern completion* et *pattern separation* alors que les changements dans les entrées sont graduels. **c.** Les composants de chaque attracteur peuvent présenter des différences dans leur fréquence de décharge (représenté par les différents niveaux de gris) comme le montre le remapping fréquentiel, propriété supposée moduler les réseaux attracteurs sans forcément en créer de nouveau.

La présence des réseaux attracteurs dans l'hippocampe serait responsable de la transition abrupte entre deux états, alors que les changements de l'environnement sont progressifs. La nature non linéaire de ce processus peut être illustrée par l'illusion visuelle d'un objet ambigu (figure D2a). On remarque que l'image perçue fluctue entre les deux images familières (bleu et rose), et qu'il est impossible de stabiliser l'image au milieu (blanc). De la même manière, dans l'expérience de Wills et al. (2005), l'activité des cellules de lieu fluctue entre les deux représentations familières carré et cercle.

Pour aller plus loin dans la métaphore de l'illusion visuelle, il semble que la forme sur fond blanc ne représente rien, si les deux perceptions visuelles ne rappellent pas des représentations familières, comme le *vase*, ou les *visages*, et ne glisse donc ni vers l'une, ni vers l'autre. C'est seulement après l'expérience visuelle du vase et des visages, qu'il devient impossible de ne pas basculer vers l'une ou l'autre des images devenues familières. Dans l'expérience de Wills et al., on peut faire l'hypothèse que nous n'aurions pas du tout observé les mêmes résultats si les environnements carré et cercle n'avaient pas été familiers avant l'expérience. Peut être aurait-on observé alors l'installation d'un remapping progressif entre les deux formes carré et cercle ? Cette hypothèse est étayée par l'étude de Lever et al. (2002), qui a montré que la mise en place d'une nouvelle représentation peut ne pas être immédiate. L'animal dans les premières expositions à deux environnements nouveaux ne sépare pas bien les environnements, ce qui nous

laisse supposer qu'il ne fait appel au début qu'à une seule représentation. En répétant les expositions à ces deux environnements, les deux représentations se séparent, ce qui se manifeste par un remapping. La présence d'attracteurs stables et même la création de nouveaux pôles attracteurs nécessiterait donc l'expérience de l'environnement.

Quels sont les éléments qui définissent un contexte spatial et qui vont permettre le rappel de la représentation adaptée ? Est-ce que tout ou une partie des repères constituant l'environnement peuvent suffire à déclencher l'activation des représentations en mémoire ? Dans notre étude sur les enregistrements de cellules de lieu chez le rat (**article n°1**), nous avons vu que le rappel des représentations en mémoire repose soit sur un seul type d'indice parmi d'autres présents, soit sur la relation entre les différents types d'indices constituant l'environnement. En effet, le conflit entre les indices lors de la double rotation menant à un environnement ambigu, a conduit à une proportion équivalente de pattern completion (45 % de cellules contrôlées par les indices) et de pattern separation (55% de remapping). Il peut paraître même surprenant de ne pas avoir observé plus de pattern completion étant donné que les rats ont été testés dans le contexte de la même pièce. Lee et al. (2004) avaient montré que le système penchait vers la pattern completion quand les rats étaient soumis à un conflit des indices dans la pièce. En fait, dans notre expérience le conflit entre les repères de la pièce est d'une amplitude globale de 180° (les objets proches étant tournés de 90° dans un sens, et les distaux de 90° dans l'autre sens), ce qui représente un conflit maximum. Le fait que le conflit ne puisse pas être plus important suggère que nous n'aurions pas pu observer plus que 55 % de remapping. Ce conflit semble mettre le système des cellules de lieu en équilibre entre la completion et la separation de pattern, laissant l'animal dans une indécision concernant le contexte dans lequel il se trouve. Cette « indécision » se retrouve d'ailleurs à l'échelle de la population de cellules enregistrées simultanément, puisque face au conflit, certaines cellules présentent du remapping, tandis que d'autres sont contrôlées par un ensemble d'indices. Il aurait été intéressant de tester les rats à travers différentes amplitudes de conflit (par exemple 90° et 45°) pour voir si ces manipulations pourraient faire diminuer la proportion de remapping.

Lors de la deuxième manipulation d'indices, le retrait de la moitié des objets de la pièce a pour conséquence un équilibre entre la pattern completion (50%) et la pattern separation (50%). Il est plutôt surprenant de ne pas observer, cette fois ci, beaucoup plus de remapping, car par rapport à l'environnement initial familier, l'environnement a été l'objet d'une double rotation de ses repères, puis à un retrait

de la moitié de l'information, ce qui représente une dégradation substantielle par rapport à l'environnement initial. Cet équilibre entre la completion et la separation met donc en évidence la flexibilité du système, car cela suggère que les animaux ne s'appuient pas sur l'environnement familier initial pour construire leur représentation, mais plutôt sur le dernier environnement visité, c'est à dire sur l'environnement déjà dégradé par la double rotation. Donc, la proportion de pattern completion ne varie pas proportionnellement à la dégradation de l'environnement, mais plus faiblement, ce qui suggère que très peu d'éléments de l'environnement suffisent au système pour re-construire un contexte familier. La dégradation progressive (en deux temps) a d'ailleurs probablement permis au système de le faire. Il aurait été également intéressant d'enlever de façon graduelle les indices pour voir si on aurait pu observer une dynamique entre la completion et la separation de pattern à l'image de celle observée dans l'étude de Wills et al. (2005).

Ces processus de pattern separation et pattern completion semblent tout de même assez extrêmes et peu flexibles, avec d'un côté la pattern separation faisant construire à l'animal une représentation radicalement différente, et de l'autre la pattern completion qui fait rappeler exactement la même représentation. Existe-t-il un mécanisme intermédiaire entre ces deux processus, qui permettrait l'intégration de nouvelles informations au niveau de représentations déjà établies ? Au niveau cellulaire, ce mécanisme pourrait bien être reflété par le « rate remapping » ou remapping fréquentiel, c'est-à-dire que les cellules de lieu seraient réactivées aux mêmes endroits de l'environnement, mais avec des changements dans leur propriété de décharge (Leutgeb et al., 2005 ; Kim et al., 2007). Ce mécanisme permettrait l'intégration de nouvelles conditions sans que le système n'ait à créer systématiquement de nouvelle représentation et permettrait donc la réactualisation d'une ancienne représentation (figure D1c). Dans nos expériences, nous n'avons pas observé de remapping fréquentiel, cependant, il est encore difficile d'établir les conditions exactes requises pour l'installation d'un tel processus et son rôle est encore trop spéculatif.

Le remapping local (ou partiel) (Muller et Kubie, 1987 ; Rivard et al., 2004), qui n'affecte que les champs d'activité proches de la modification environnementale, met en évidence que le système s'adapte à la modification locale, sans pour autant remettre en cause la représentation globale de l'environnement. Ce type de remapping pourrait aussi être le reflet de la mise à jour d'une représentation déjà établie.

Au niveau comportemental, des études (Save et al., 1992a, 1992b) montrent que si une configuration d'objets placés dans un même environnement est modifiée, les animaux ré-explorent beaucoup plus les objets qui ont été déplacés. Les animaux qui ont été lésés au niveau de l'hippocampe ne ré-explorent pas plus les objets changés de place, mais ré-explorent l'ensemble de l'environnement, ce qui suggère qu'ils ne sont plus capables de détecter les changements spatiaux. Donc, d'une part, un animal placé dans un contexte familier avec des changements mineurs va sélectivement explorer la modification, ce qui permet la mise à jour de la représentation de ce contexte. D'autre part, un animal qui est placé dans ce qu'il perçoit comme un nouveau contexte, va laisser son ancienne représentation intacte (sans mise à jour), et va former une nouvelle représentation.

La partie du système hippocampique qui sert à « orthogonaliser » les représentations serait le gyrus denté associé à la région CA3 (Daumas et al., 2005 ; McHugh et al., 2007 ; Bakker et al., 2008 chez l'homme), de telle sorte que des motifs de décharge relativement similaires au niveau du gyrus denté sont séparés en des motifs de décharge assez différents au niveau de CA3. Nous observons, dans notre étude sur les enregistrements des souris zif268, que la stabilité de la représentation de l'environnement familier est instable après les premières expositions à l'environnement nouveau (**article n°2**). Ce problème de stabilité pourrait peut être révéler un déficit de pattern separation par le gyrus denté qui aurait conduit à une confusion de contexte du carré et du cercle. C'est d'ailleurs précisément la structure au niveau de laquelle le déficit de PLT a été mise en évidence après stimulation de la voie perforante, chez les souris mutantes zif268. En fait, si la représentation du nouvel environnement se superpose avec la représentation familière, il serait possible que la représentation du nouvel environnement puisse interférer avec la représentation de l'environnement familier. Dans le même protocole, il aurait été intéressant de soumettre les animaux à l'environnement carré dans une pièce, et à l'environnement cercle, dans une autre pièce, ce qui aurait permis de savoir si l'instabilité dans l'environnement familier était une conséquence d'un déficit dans la séparation des représentations, qui résulterait d'un déficit de séparation des contextes environnementaux.

Pour résumer, la question de savoir si l'animal est dans un ancien contexte ou nouveau est fondamentale puisqu'elle va déterminer finalement si l'animal doit réactualiser une ancienne représentation, ou s'il doit en créer une nouvelle. Nous avons vu que jusqu'à un certain point, le système accepte des changements mineurs dans un contexte familier, ce qui est révélé au niveau hippocampique par

une stabilité des champs d'activité. Jusqu'à ce point, le système entre dans une phase de transition, puis les cellules de lieu présentent un remapping. De façon très schématique, quand on observe un remapping global, le système a « décidé » que l'animal se trouve dans un nouvel environnement. Quand on ne l'observe pas, c'est que l'animal a décidé qu'il était sur un sol familier, et on observe plutôt du remapping fréquentiel. A un niveau comportemental, la nature de l'exploration avec l'environnement et les objets le constituant reflète cette « décision » : dans un contexte familier, l'exploration est concentrée sur la modification, alors que dans un contexte nouveau, elle a lieu sur l'ensemble de l'environnement.

La force de rappel du contexte

Dans les expériences de conditionnement à la peur, un simple retour de l'animal dans le contexte qui a été associé à une punition engendre une réaction de peur qui se manifeste par un « freezing ». Ce paradigme met en évidence l'aspect capital du contexte dans le comportement de l'animal et sa puissance d'évocation.

Dans notre étude concernant la reconsolidation de l'information spatiale chez les souris mutantes *zif268* (**étude n°3**), nous avons montré qu'une seule réactivation au même environnement, avec la même configuration d'objet que lors de l'apprentissage, était capable de rappeler la représentation de cet environnement. Cependant, ce rappel ne peut se faire que dans des conditions très particulières. Bozon et al. (2003) ont en effet montré qu'exactement le même contexte, c'est à dire la même arène, avec les mêmes objets, doit être ré-expérimenté pour rappeler la représentation et la rendre de nouveau labile. Par exemple, la représentation ne peut pas être rappelée avec l'arène seule sans les objets, ou même avec les mêmes objets placés dans une autre arène.

Artinian et al. (2007) démontrent aussi qu'une seule exposition à l'environnement de la piscine de Morris suffit à réactiver le souvenir de l'emplacement spatial de la plate-forme et à le rendre de nouveau labile en suscitant les processus de reconsolidation. Contrairement à Bozon et al., les animaux n'ont pas besoin d'être replacés exactement dans les mêmes conditions expérimentales que lors de l'apprentissage, c'est-à-dire directement dans la piscine pour que le souvenir soit réactivé. Ils ont montré en effet que le simple fait d'amener les animaux dans la pièce expérimentale suffisait à réactiver le souvenir et à le rendre de nouveau labile.

Même s'il est encore délicat de déterminer exactement quels éléments du contexte vont permettre de rappeler un souvenir, comme celui de la représentation d'un environnement, il semblerait que la reconsolidation, par la remise dans un état actif de la mémoire, soit un processus délétère pour la mémoire puisqu'il

contribue à le fragiliser. Quel pourrait bien être l'intérêt de rappeler un souvenir pour le remettre dans un état labile et donc susceptible de ne plus pouvoir être utilisé plus tard ? En plus de son rôle supposé dans la lutte contre l'oubli, une expérience récente chez l'homme montre que ce processus de reconsolidation pourrait même avoir un rôle de mise à jour, en enrichissant le souvenir existant (Hupbach et al., 2007). Dans cette expérience, ils ont testé les effets d'une réactivation par le contexte sur le rappel d'une liste de 20 objets, en testant pour la première fois une mémoire explicite, se référant à la mémoire épisodique. La plupart des études s'était en effet jusque là concentrée sur une mémoire implicite procédurale. Dans cette élégante expérience, des individus doivent apprendre une liste d'objets qui sont placés dans un panier bleu. Deux jours plus tard, ces individus sont divisés en deux groupes : un groupe est soumis à une réactivation en leur présentant le panier bleu et en leur demandant de se souvenir de leur expérience passée tandis que l'autre groupe n'est soumis à aucune réactivation. Ensuite, les deux groupes doivent apprendre une seconde liste d'objets, qui sont cette fois-ci disposés sur la table. Deux jours plus tard, lorsqu'on demande aux individus de citer les objets qui étaient contenus dans la liste 1, les deux groupes rappellent cette liste aussi bien. Par contre le groupe qui a subi la réactivation va « introduire » des items de la liste 2 dans la liste 1 dans une proportion beaucoup plus importante que le groupe qui n'a pas subi la réactivation. Cet effet n'est pas observé si le rappel est effectué immédiatement après avoir appris la liste 2. La réactivation a donc probablement réactivé la liste 1, la remettant dans un état labile, dans lequel de nouvelles informations ont pu être incorporées. Cette expérience a montré que la reconsolidation est un processus qui reflète les effets de mise à jour de la mémoire dépendant du rappel, et que les processus de reconsolidation sont aussi observés chez l'homme.

Une telle mise à jour ne peut avoir lieu que lorsque le contexte est rappelé. Ces résultats montrent que le contexte joue un rôle critique à la base de la consolidation et de la re-consolidation: dans un même contexte, une représentation existante est mise à jour et transformée, mais dans un nouveau contexte, une nouvelle représentation est créée.

Les nombreuses études qui tentent de mieux comprendre quel est le support neuronal des représentations spatiales et finalement quel est le support neuronal du contexte et comment il fonctionne, permettent d'améliorer notre connaissance de la mémoire épisodique.

Stabilité des représentations familières et nouvelles

Créer une toute nouvelle représentation en réponse à un nouvel environnement, est différent de mettre à jour une représentation existante à cause de quelques changements de l'environnement. C'est la même différence qui sépare la consolidation de la mémoire de la reconsolidation de la mémoire. Il n'est pas encore établi clairement que les mécanismes moléculaires impliqués dans ces deux processus sont identiques, mais nos études et celles de Bozon et al. (2001 ; 2003) convergent pour dire que le facteur de transcription inductible zif268 fait partie des mécanismes communs à la consolidation et à la reconsolidation. Zif268 est nécessaire à la stabilisation de la phase tardive de la PLT dans le gyrus denté, et l'absence de zif268 empêche la consolidation et la reconsolidation de la mémoire de reconnaissance (Jones et al., 2001 ; Bozon et al., 2003). Nous avons montré que l'inactivation de zif268 altère la stabilité des cellules de lieu, qui représentent le support neuronal de la mémoire spatiale. De plus, nous avons mis en évidence que l'inactivation de zif268 empêche la reconsolidation de la mémoire spatiale. Donc, nos résultats indiquent que le rôle du gène zif268 n'est pas restreint qu'à une seule forme de mémoire et qu'il a, par conséquent, un rôle clef dans les mécanismes moléculaires impliqués dans la stabilisation de la mémoire à long terme en général. De plus, en mettant en évidence un lien entre zif268 et la stabilité des cellules de lieu, nous confirmons qu'il existe aussi un lien entre la PLT et les cellules de lieu, puisque zif268 permet le maintien de la PLT. Ce qui est intéressant, c'est que toutes les études portant sur les différents éléments de la cascade moléculaire induite par une activation du récepteur NMDA, impliquant la PKA ou encore la CaMKII et maintenant le gène zif268, convergent globalement toutes vers le même résultat : les manipulations génétiques ou pharmacologiques qui affectent les différents niveaux de la cascade affectent le maintien des phases tardives de la PLT, l'apprentissage spatial et perturbe la stabilité des champs d'activité des cellules de lieu, sans affecter leur mise en place dans un nouvel environnement (Kentros, 1998: antagoniste NMDA; Cho et al., 1998: CaMKII et CREB; Mc Hugh et al., 1996: CA1-spécifique NMDA; Rotenberg et al., 1996: CaMKII ; Rotenberg et al., 2000: PKA ; Cacucci and al., 2007: CaMKII). Tous ces acteurs moléculaires font partie de la voie de signalisation qui permet le maintien de la PLT et la transition entre la mémoire à court terme et la mémoire à long terme. Zif268 est un facteur de transcription induisant la transcription d'autres gènes impliqués dans les modifications synaptiques à long terme. Par sa situation en fin de cascade moléculaire, il représente pour le moment l'élément le plus spécifique permettant d'expliquer le

passage de la mémoire à court terme à la mémoire à long terme, par rapport aux autres intervenants de la voie de signalisation, qui ont de nombreux substrats (NMDA, PKA).

Nos résultats, avec ceux des autres études montrent que la plasticité synaptique est nécessaire pour l'établissement de représentations neuronales stables dans l'hippocampe et que ces représentations seraient aussi requises pour la mémoire spatiale. Dans l'ensemble, cela suggère un lien entre la PLT, les cellules de lieu et la mémoire.

Perspectives sur les cellules de lieu et Zif268

Le rôle établi de zif268 dans la plasticité synaptique et dans les fonctions cognitives devrait avoir des implications dans l'état pathologique de la mémoire. Par exemple, des études rapportent une diminution de l'expression de zif268 dans le cerveau âgé (Yau et al., 1996 ; Desjardins et al., 1997), de même que dans le modèle souris de la maladie de Huntington (Spektor et al., 2002) et de la maladie d'Alzheimer (Dickey et al., 2003).

Il paraît donc intéressant de tenter de faire des parallèles entre notre étude et les études qui se sont intéressées à la stabilité des représentations spatiales chez des rats âgés. Barnes et al. (1997) montrent que les rats âgés, qui ont une mémoire altérée, présentent des champs d'activité instables dans un même environnement à court terme et identiques à ceux de rats jeunes, qui ont reçu une injection d'antagoniste NMDA. De manière complètement opposée, des études ont montré que les rats âgés présentent une rigidité anormale des champs d'activité des cellules de lieu, qui se traduit par une stabilité des champs lorsque les animaux passent d'un environnement familier à un environnement nouveau (Wilson et al., 2004 ; Tanila et al., 1997). Lorsque le rat âgé peut se déplacer entre deux environnements visuellement similaires, l'animal est capable de constituer des représentations différentes dans chaque environnement, ce qui suggère que le réseau hippocampique de rat âgés est plus influencé par les indices idiothétiques que par les indices visuels externes allothétiques (Wilson et al., 2005). L'absence de flexibilité chez le rat âgé ne provient donc pas d'une incapacité à former une nouvelle représentation, mais plutôt d'un problème dans l'utilisation des repères visuels externes, ce qui est confirmé par le fait que les champs restent stables face à la rotation d'une carte définissant l'environnement (Wilson et al., 2004). Des déficits attentionnels visuels pourraient être à l'origine de l'ensemble de ces déficits (Muir et al., 1999). Les études qui ont été réalisées en enregistrant l'activité des cellules de lieu chez le rat âgé n'ont cependant étudié que la

plasticité à court terme des champs d'activité, et nous ne pouvons pas comparer les propriétés des champs d'activité sur le long terme.

En tout cas, en ce qui concerne la plasticité des cellules de lieu à court terme, la diminution éventuelle de zif268 dans le cerveau de rats âgés ne serait pas responsable des problèmes d'instabilité ou de rigidité des champs à court terme, puisque nous avons trouvé d'une part que le système des cellules de lieu des souris zif268 était capable de former de nouvelles représentations et que ces représentations étaient relativement stables à court terme, ce qui n'est pas le cas chez des animaux âgés. Par contre, étant donné nos résultats sur la stabilité à long terme des champs d'activité, zif268 pourrait être responsable de déficits à long terme chez les rats âgés. Ce rapprochement permet d'isoler les effets spécifiques dus au vieillissement, des effets spécifiques de délétion d'acteurs intervenant dans les mécanismes moléculaires de la mémoire à long terme.

Le rapprochement entre la biologie moléculaire et les neurosciences cognitives promet donc de parachever le cercle d'unification allant de « l'esprit à la molécule » et de « la molécule à l'esprit ». Malgré tous les espoirs que l'unification de ces deux disciplines offrent, les travaux n'en sont qu'à leurs débuts. Par exemple, le mécanisme de PLT semble bien sous-tendre la mémoire déclarative, mais il s'agit d'un phénomène artificiel et nous ne savons toujours pas comment il est utilisé durant le stockage mnésique normal. Si on a réussi à identifier un petit nombre de gènes et protéines qui font passer l'information de la mémoire à court terme à la mémoire à long terme, il reste un long chemin à parcourir avant de comprendre les étapes moléculaires requises pour l'établissement des changements structuraux de la mémoire à long terme.

Projets de recherche

L'expérience acquise au cours de ma thèse en électrophysiologie chez la souris Knock Out libre de se déplacer, va me permettre d'intégrer l'équipe du Pr. S. Tonegawa, à Boston (Picower Institute, MIT). Le projet de recherche aussi excitant qu'ambitieux s'inscrit dans une thématique de recherche très actuelle qui vise à mieux comprendre l'implication de la neurogenèse de l'adulte dans la mémoire. Pour cela, l'équipe de S. Tonegawa a mis au point une souche de souris incapable de générer de nouveaux neurones spécifiquement dans le gyrus denté, site principal de la neurogenèse chez l'adulte. Mon travail consistera à tester la mémoire spatiale de ces souris déficientes. Grâce à mon expertise en électrophysiologie, je vais pouvoir réaliser des enregistrements de l'activité neuronale des aires cérébrales en relation directe avec le gyrus denté. L'enjeu de

ces recherches est de taille, puisque les maladies et les lésions impliquant une mort du neurone sont parmi les plus dévastatrices (accidents vasculaires cérébraux, maladies neurodégénératives). La compréhension de la neurogenèse chez l'adulte et de son implication dans la mémoire permet d'ouvrir des perspectives thérapeutiques très intéressantes de réparation cérébrale, en guidant par exemple les cellules nouvellement formées vers les régions cérébrales lésées.

Bibliographie

A

- Abeliovich, A.; Paylor, R.; Chen, C.; Kim, J. J.; Wehner, J. M. & Tonegawa, S. (1993), 'PKC gamma mutant mice exhibit mild deficits in spatial and contextual learning.', *Cell* **75**(7), 1263--1271.
- Abraham, W. C.; Dragunow, M. & Tate, W. P. (1991), 'The role of immediate early genes in the stabilization of long-term potentiation.', *Mol Neurobiol* **5**(2-4), 297--314.
- Abraham, W. C.; Mason, S. E.; Demmer, J.; Williams, J. M.; Richardson, C. L.; Tate, W. P.; Lawlor, P. A. & Dragunow, M. (1993), 'Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation.', *Neuroscience* **56**(3), 717--727.
- Alberini, C. M.; Ghirardi, M.; Metz, R. & Kandel, E. R. (1994), 'C/EBP is an immediate-early gene required for the consolidation of long-term facilitation in Aplysia.', *Cell* **76**(6), 1099--1114.
- Alberini, C. M. (2005), 'Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes?', *Trends Neurosci* **28**(1), 51--56.
- Alger, B. E. & Teyler, T. J. (1976), 'Long-term and short-term plasticity in the CA1, CA3, and dentate regions of the rat hippocampal slice.', *Brain Res* **110**(3), 463--480.
- Aimone, J.B.; Wiles, J. & Gage, F.H. (2006), 'Potential role for adult neurogenesis in the encoding of time in new memories.', *Nat Neurosci* **9**(6), 723--727.
- Amaral, D.G.; Witter, M.P. (1989), 'The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data', *Neuroscience* **31**, 571--591.
- Andersen, P. (1977), 'Long-lasting facilitation of synaptic transmission.', *Ciba Found Symp*(58), 87--108.
- Artinian, J.; Jaeger, X.D.; Fellini, L.; Blanquat, P.d.S. & Roullet, P. (2007), 'Reactivation with a simple exposure to the experimental environment is sufficient to induce reconsolidation requiring protein synthesis in the hippocampal CA3 region in mice.', *Hippocampus* **17**(3), 181--191.
- Ascher, P.; Bregestovski, P. & Nowak, L. (1988), 'N-methyl-D-aspartate-activated channels of mouse central neurones in magnesium-free solutions.', *J Physiol* **399**, 207--226.
- Ascher, P. & Nowak, L. (1988), 'The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture.', *J Physiol* **399**, 247--266.
- Aztely, F.; Wigström, H. & Gustafsson, B. (1992), 'The Relative Contribution of NMDA Receptor Channels in the Expression of Long-term Potentiation in the Hippocampal CA1 Region.', *Eur J Neurosci* **4**(8), 681--690.

B

- Bailey, C. H.; Bartsch, D. & Kandel, E. R. (1996), 'Toward a molecular definition of long-term memory storage.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**(24), 13445--13452.
- Bakker, A.; Kirwan, C. B.; Miller, M. & Stark, C. E. L. (2008), 'Pattern separation in the human hippocampal CA3 and dentate gyrus.', *Science* **319**(5870), 1640--1642.
- Bannerman, D. M.; Good, M. A.; Butcher, S. P.; Ramsay, M. & Morris, R. G. (1995), 'Distinct components of spatial learning revealed by prior training and NMDA receptor blockade.', *Nature* **378**(6553), 182--186.

- Barker, G.R.I.; Bird, F.; Alexander, V. & Warburton, E.C. (2007), 'Recognition memory for objects, place, and temporal order: a disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex.', *J Neurosci* **27**(11), 2948--2957.
- Barnes, C.A. (1988), 'Spatial learning and memory processes: the search for their neurobiological mechanisms in the rat.', *Trends Neurosci* **11**(4), 163--169.
- Barnes, C. A.; Danysz, W. & Parsons, C. G. (1996), 'Effects of the uncompetitive NMDA receptor antagonist memantine on hippocampal long-term potentiation, short-term exploratory modulation and spatial memory in awake, freely moving rats.', *Eur J Neurosci* **8**(3), 565--571.
- Barnes, C. A.; Suster, M. S.; Shen, J. & McNaughton, B. L. (1997), 'Multistability of cognitive maps in the hippocampus of old rats.', *Nature* **388**(6639), 272--275.
- Barria, A.; Muller, D.; Derkach, V.; Griffith, L. C. & Soderling, T. R. (1997), 'Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation.', *Science* **276**(5321), 2042--2045.
- Bashir, Z. I.; Bortolotto, Z. A.; Davies, C. H.; Berretta, N.; Irving, A. J.; Seal, A. J.; Henley, J. M.; Jane, D. E.; Watkins, J. C. & Collingridge, G. L. (1993), 'Induction of LTP in the hippocampus needs synaptic activation of glutamate metabotropic receptors.', *Nature* **363**(6427), 347--350.
- Bassett, J.P. & Taube, J.S. (2001), 'Neural correlates for angular head velocity in the rat dorsal tegmental nucleus.', *J Neurosci* **21**(15), 5740--5751.
- Beck, H.; Goussakov, I. V.; Lie, A.; Helmstaedter, C. & Elger, C. E. (2000), 'Synaptic plasticity in the human dentate gyrus.', *J Neurosci* **20**(18), 7080--7086.
- Benhamou, S. & Poucet, B. (1998), 'Landmark use by navigating rats: Contrasting geometrical and featural information.', *Journal of Comparative Psychology* **112**, 317--322.
- Bennett, M. R. (2000), 'The concept of long term potentiation of transmission at synapses.', *Prog Neurobiol* **60**(2), 109--137.
- Biegler, R. (2000), 'Possible uses of path integration in animal navigation.', *Animal Learning and Behavior* **28**, 257--277.
- Blair, H.T. & Sharp, P.E. (1995), 'Anticipatory head direction signals in anterior thalamus: evidence for a thalamocortical circuit that integrates angular head motion to compute head direction.', *J Neurosci* **15**(9), 6260--6270.
- Blair, H.T. & Sharp, P.E. (1996), 'Visual and vestibular influences on head-direction cells in the anterior thalamus of the rat.', *Behav Neurosci* **110**(4), 643--660.
- Blair, H.T.; Cho, J. & Sharp, P.E. (1998), 'Role of the lateral mammillary nucleus in the rat head direction circuit: a combined single unit recording and lesion study.', *Neuron* **21**(6), 1387--1397.
- Blair, H.T.; Cho, J. & Sharp, P.E. (1999), 'The anterior thalamic head-direction signal is abolished by bilateral but not unilateral lesions of the lateral mammillary nucleus.', *J Neurosci* **19**(15), 6673--6683.
- Bliss, T. V. & Lomo, T. (1973), 'Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path.', *J Physiol* **232**(2), 331--356.
- Blitzer, R. D.; Wong, T.; Nouranifar, R.; Iyengar, R. & Landau, E. M. (1995), 'Postsynaptic cAMP pathway gates early LTP in hippocampal CA1 region.', *Neuron* **15**(6), 1403--1414.

- Bolhuis, J. J.; Zijlstra, G. G.; den Boer-Visser, A. M. & Zee, E. A. V. D. (2000), 'Localized neuronal activation in the zebra finch brain is related to the strength of song learning.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**(5), 2282--2285.
- Bostock, E.; Muller, R.U. & Kubie, J.L. (1991), 'Experience-dependent modifications of hippocampal place cell firing.', *Hippocampus* **1**(2), 193--205.
- Bower, M. R.; Euston, D. R. & McNaughton, B. L. (2005), 'Sequential-context-dependent hippocampal activity is not necessary to learn sequences with repeated elements.', *J Neurosci* **25**(6), 1313--1323.
- Bozon, B.; Davis, S. & Laroche, S. (2002), 'Regulated transcription of the immediate-early gene Zif268: mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation.', *Hippocampus* **12**(5), 570--577.
- Bozon, B.; Davis, S. & Laroche, S. (2003), 'A requirement for the immediate early gene zif268 in reconsolidation of recognition memory after retrieval.', *Neuron* **40**(4), 695--701.
- Brun, V.H.; Otnass, M.K.; Molden, S.; Steffenach, H.; Witter, M.P.; Moser, M. & Moser, E.I. (2002), 'Place cells and place recognition maintained by direct entorhinal-hippocampal circuitry.', *Science* **296**(5576), 2243--2246.
- Bucci, D. J.; Conley, M. & Gallagher, M. (1999), 'Thalamic and basal forebrain cholinergic connections of the rat posterior parietal cortex.', *Neuroreport* **10**(5), 941--945.
- Bures, J.; Fenton, A.A.; Kaminsky, Y. & Zinyuk, L. (1997), 'Place cells and place navigation', *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **94**(1), 343--350.
- Burguière, E.; Arleo, A.; reza Hojjati, M.; Elgersma, Y.; Zeeuw, C. I. D.; Berthoz, A. & Rondi-Reig, L. (2005), 'Spatial navigation impairment in mice lacking cerebellar LTD: a motor adaptation deficit?', *Nat Neurosci* **8**(10), 1292--1294.
- Burwell, R.D.; Witter, M.P. & Amaral, D.G. (1995), 'Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: a review of the neuroanatomical literature and comparison with findings from the monkey brain.', *Hippocampus* **5**(5), 390--408.
- Burwell, R.D.; Shapiro, M.L.; O'Malley, M.T. & Eichenbaum, H. (1998), 'Positional firing properties of perirhinal cortex neurons.', *Neuroreport* **9**(13), 3013--3018.
- Burwell, R.D. & Amaral, D.G. (1998), 'Cortical afferents of the perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices of the rat', *The Journal Of Comparative Neurology* **398**(2), 179--205.
- Burwell, R.D. (2000), 'The parahippocampal region: corticocortical connectivity.', *Ann N Y Acad Sci* **911**, 25--42.
- Burwell, R.D. & Hafeman, D.M. (2003), 'Positional firing properties of postrhinal cortex neurons.', *Neuroscience* **119**(2), 577--588.
- Buzsáki, G. (2005), 'Neuroscience: neurons and navigation.', *Nature* **436**(7052), 781--782.
- Buzsáki, G. (2007), *Rhythms of the brain*, Oxford university press.

C

- Cacucci, F.; Lever, C.; Wills, T.J.; Burgess, N. & O'Keefe, J. (2004), 'Theta-modulated place-by-direction cells in the hippocampal formation in the rat.', *J Neurosci* **24**(38), 8265--8277.

- Cacucci, F.; Wills, T. J.; Lever, C.; Giese, K. P. & O'Keefe, J. (2007), 'Experience-dependent increase in CA1 place cell spatial information, but not spatial reproducibility, is dependent on the autophosphorylation of the alpha-isoform of the calcium/calmodulin-dependent protein kinase II.', *J Neurosci* **27**(29), 7854--7859.
- Canning, K.J. & Leung, L.S. (1997), 'Lateral entorhinal, perirhinal, and amygdala-entorhinal transition projections to hippocampal CA1 and dentate gyrus in the rat: a current source density study.', *Hippocampus* **7**(6), 643--655.
- Castellucci, V.; Pinsky, H.; Kupfermann, I. & Kandel, E. R. (1970), 'Neuronal mechanisms of habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in *Aplysia*.', *Science* **167**(926), 1745--1748.
- Chandler, H. C.; King, V.; Corwin, J. V. & Reep, R. L. (1992), 'Thalamocortical connections of rat posterior parietal cortex.', *Neurosci Lett* **143**(1-2), 237--242.
- Chen, L.L.; Lin, L.H.; Green, E.J.; Barnes, C.A. & McNaughton, B.L. (1994), 'Head-direction cells in the rat posterior cortex. I. Anatomical distribution and behavioral modulation.', *Exp Brain Res* **101**(1), 8--23.
- Chen, L.L.; Lin, L.H.; Barnes, C.A. & McNaughton, B.L. (1994a), 'Head-direction cells in the rat posterior cortex. II. Contributions of visual and ideothetic information to the directional firing.', *Exp Brain Res* **101**(1), 24--34.
- Chen, L.L. & Nakamura, K. (1998), 'Head-centered representation and spatial memory in rat posterior parietal cortex.', *Psychobiology* **26**, 119--127.
- Cheng, K. (1986), 'A purely geometric module in the rat's spatial representation.', *Cognition* **23**(2), 149--178.
- Cho, Y. H.; Giese, K. P.; Tanila, H.; Silva, A. J. & Eichenbaum, H. (1998), 'Abnormal hippocampal spatial representations in alphaCaMKIIT286A and CREBalphaDelta- mice.', *Science* **279**(5352), 867--869.
- Cho, J. and Sharp, P.E. (2001), 'Head direction, place, and movement correlates for cells in the rat retrosplenial cortex.', *Behav. Neurosci* **115**, 3--25.
- Christy, B. & Nathans, D. (1989), 'DNA binding site of the growth factor-inducible protein Zif268.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**(22), 8737--8741.
- Clark, R.E.; Zola, S.M. & Squire, L.R. (2000), 'Impaired recognition memory in rats after damage to the hippocampus.', *J Neurosci* **20**(23), 8853--8860.
- Clayton, N.S. & Dickinson, A. (1998), 'Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays.', *Nature* **395**(6699), 272--274.
- Cressant, A.; Muller, R.U. & Poucet, B. (1997), 'Failure of centrally placed objects to control the firing fields of hippocampal place cells.', *J Neurosci* **17**(7), 2531--2542.
- Cressant, A.; Muller, R.U. & Poucet, B. (1999), 'Further study of the control of place cell firing by intra-apparatus objects.', *Hippocampus* **9**(4), 423--431.
- Cressant, A.; Muller, R.U. & Poucet, B. (2002), 'Remapping of place cell firing patterns after maze rotations.', *Exp Brain Res* **143**(4), 470--479.
- Cole, A. J.; Saffen, D. W.; Baraban, J. M. & Worley, P. F. (1989), 'Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation.', *Nature* **340**(6233), 474--476.

Collett, T. S.; Cartwright, B. A. & Smith, B. A. (1986), 'Landmark learning and visuo-spatial memories in gerbils.', *J Comp Physiol [A]* **158**(6), 835--851.

Collingridge, G. L.; Kehl, S. J.; Loo, R. & McLennan, H. (1983), 'Effects of kainic and other amino acids on synaptic excitation in rat hippocampal slices: 1. Extracellular analysis.', *Exp Brain Res* **52**(2), 170--178.

Cullinan, W. E.; Herman, J. P.; Battaglia, D. F.; Akil, H. & Watson, S. J. (1995), 'Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress.', *Neuroscience* **64**(2), 477--505.

D

Damasio, A. R. (1989), 'Time-locked multiregional retroactivation: a systems-level proposal for the neural substrates of recall and recognition.', *Cognition* **33**(1-2), 25--62.

Daumas, S.; Halley, H.; Francés, B. & Lassalle, J. (2005), 'Encoding, consolidation, and retrieval of contextual memory: differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions.', *Learn Mem* **12**(4), 375--382.

Da Silva, F. H. L.; Witter, M. P.; Boeijinga, P. H. & Lohman, A. H. (1990), 'Anatomic organization and physiology of the limbic cortex.', *Physiol Rev* **70**(2), 453--511.

Davis, H. P. & Squire, L. R. (1984), 'Protein synthesis and memory: a review.', *Psychol Bull* **96**(3), 518--559.

Davis, S.; Vanhoutte, P.; Pages, C.; Caboche, J. & Laroche, S. (2000), 'The MAPK/ERK cascade targets both Elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus in vivo.', *J Neurosci* **20**(12), 4563--4572.

Davis, S.; Bozon, B. & Laroche, S. (2003), 'How necessary is the activation of the immediate early gene zif268 in synaptic plasticity and learning?', *Behav Brain Res* **142**(1-2), 17--30.

Deadwyler, S.A.; Bunn, T. & Hampson, R.E. (1996), 'Hippocampal ensemble activity during spatial delayed-nonmatch-to-sample performance in rats.', *J Neurosci* **16**(1), 354--372.

Debiec, J.; LeDoux, J. E. & Nader, K. (2002), 'Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus.', *Neuron* **36**(3), 527--538.

Deadwyler, S.A. & Hampson, R.E. (2004), 'Differential but complementary mnemonic functions of the hippocampus and subiculum', *Neuron* **42**(3), 465--476.

Desjardins, S.; Mayo, W.; Vallée, M.; Hancock, D.; Moal, M. L.; Simon, H. & Abrous, D. N. (1997), 'Effect of aging on the basal expression of c-Fos, c-Jun, and Egr-1 proteins in the hippocampus.', *Neurobiol Aging* **18**(1), 37--44.

Devlin, J.T. & Price, C.J. (2007), 'Perirhinal Contributions to Human Visual Perception.', *Curr Biol* **17**(17), 1484--1488.

Dickey, C. A.; Loring, J. F.; Montgomery, J.; Gordon, M. N.; Eastman, P. S. & Morgan, D. (2003), 'Selectively reduced expression of synaptic plasticity-related genes in amyloid precursor protein + presenilin-1 transgenic mice.', *J Neurosci* **23**(12), 5219--5226.

Dolorfo, C.L. & Amaral, D.G. (1998), 'Entorhinal cortex of the rat: topographic organization of the cells of origin of the perforant path projection to the dentate gyrus.', *J Comp Neurol* **398**(1), 25--48.

Dolorfo, C.L. & Amaral, D.G. (1998a), 'Entorhinal cortex of the rat: organization of intrinsic connections.', *J Comp Neurol* **398**(1), 49-82.

Dragoi, G.; Harris, K.D. & Buzsaki, G. (2003), 'Place representation within hippocampal networks is modified by long-term potentiation', *Neuron* **39**(5), 843--853.

Dragunow, M.; Abraham, W. & Hughes, P. (1996), 'Activation of NMDA and muscarinic receptors induces nur-77 mRNA in hippocampal neurons.', *Brain Res Mol Brain Res* **36**(2), 349--356.

Duvarci, S.; Nader, K. & LeDoux, J. E. (2005), 'Activation of extracellular signal-regulated kinase- mitogen-activated protein kinase cascade in the amygdala is required for memory reconsolidation of auditory fear conditioning.', *Eur J Neurosci* **21**(1), 283--289.

E

Eichenbaum, H.; Kuperstein, M.; Fagan, A. & Nagode, J. (1987), 'Cue-sampling and goal-approach correlates of hippocampal unit activity in rats performing an odor-discrimination task.', *J Neurosci* **7**(3), 716--732.

Eichenbaum, H.; Fagan, A.; Mathews, P. & Cohen, N.J. (1988), 'Hippocampal system dysfunction and odor discrimination learning in rats: impairment or facilitation depending on representational demands.', *Behav Neurosci* **102**(3), 331--339.

Eichenbaum, H. & Cohen, N.J. (1988a), 'Representation in the hippocampus: what do hippocampal neurons code?', *Trends Neurosci* **11**(6), 244--248.

Eichenbaum, H.; Dudchenko, P.; Wood, E.; Shapiro, M. & Tanila, H. (1999), 'The hippocampus, memory, and place cells: is it spatial memory or a memory space?', *Neuron* **23**(2), 209--226.

Eisenberg, M. & Dudai, Y. (2004), 'Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in Medaka: old fears don't die.', *Eur J Neurosci* **20**(12), 3397--3403.

Ekstrom, A.D.; Meltzer, J.; McNaughton, B.L. & Barnes, C.A. (2001), 'NMDA receptor antagonism blocks experience-dependent expansion of hippocampal "place fields".', *Neuron* **31**(4), 631--638.

Ekstrom, A. D.; Kahana, M. J.; Caplan, J. B.; Fields, T. A.; Isham, E. A.; Newman, E. L. & Fried, I. (2003), 'Cellular networks underlying human spatial navigation.', *Nature* **425**(6954), 184--188.

Emery, N. J. & Clayton, N. S. (2004), 'The mentality of crows: convergent evolution of intelligence in corvids and apes.', *Science* **306**(5703), 1903--1907

Ennaceur, A. & Delacour, J. (1988), 'A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data.', *Behav Brain Res* **31**(1), 47--59.

F

Ferbinteanu, J. & Shapiro, M. L. (2003), 'Prospective and retrospective memory coding in the hippocampus.', *Neuron* **40**(6), 1227--1239.

Ferbinteanu, J.; Kennedy, P. J. & Shapiro, M. L. (2006), 'Episodic memory : from brain to mind.', *Hippocampus* **16**(9), 691--703.

Ferino, F.; Thierry, A. & Glowinski, J. (1987), 'Anatomical and electrophysiological evidence for a direct projection from Ammon's horn to the medial prefrontal cortex in the rat.', *Exp Brain Res* **65**(2), 421--426.

- Foster, T.C.; Castro, C.A. & McNaughton, B.L. (1989), 'Spatial selectivity of rat hippocampal neurons: dependence on preparedness for movement.', *Science* **244**(4912), 1580--1582.
- Frank, L.M.; Brown, E.N. & Wilson, M. (2000), 'Trajectory encoding in the hippocampus and entorhinal cortex.', *Neuron* **27**(1), 169--178.
- Frankland, P. W.; Josselyn, S. A.; Anagnostaras, S. G.; Kogan, J. H.; Takahashi, E. & Silva, A. J. (2004), 'Consolidation of CS and US representations in associative fear conditioning.', *Hippocampus* **14**(5), 557--569.
- Frankland, P. W. & Bontempi, B. (2005), 'The organization of recent and remote memories.', *Nat Rev Neurosci* **6**(2), 119--130.
- Freeman, F. M. & Rose, S. P. (1999), 'Expression of Fos and Jun proteins following passive avoidance training in the day-old chick.', *Learn Mem* **6**(4), 389--397.
- French, P. J.; O'Connor, V.; Jones, M. W.; Davis, S.; Errington, M. L.; Voss, K.; Truchet, B.; Wotjak, C.; Stean, T.; Doyère, V.; Maroun, M.; Laroche, S. & Bliss, T. V. (2001), 'Subfield-specific immediate early gene expression associated with hippocampal long-term potentiation in vivo.', *Eur J Neurosci* **13**(5), 968--976.
- Frey, U.; Huang, Y. Y. & Kandel, E. R. (1993), 'Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons.', *Science* **260**(5114), 1661--1664.
- Fuhs, M.C.; Vanrhoads, S.R.; Casale, A.E.; McNaughton, B. & Touretzky, D.S. (2005), 'Influence of path integration versus environmental orientation on place cell remapping between visually identical environments.', *J Neurophysiol* **94**(4), 2603--2616.
- Fuhs, M.C. & Touretzky, D.S. (2006), 'A spin glass model of path integration in rat medial entorhinal cortex.', *J Neurosci* **26**(16), 4266--4276.
- Fyhn, M.; Molden, S.; Hollup, S.; Moser, M. & Moser, E.I. (2002), 'Hippocampal neurons responding to first-time dislocation of a target object.', *Neuron* **35**(3), 555--566.
- Fyhn, M.; Molden, S.; Witter, M.P.; Moser, E.I. & Moser, M. (2004), 'Spatial representation in the entorhinal cortex.', *Science* **305**(5688), 1258--1264.
- Fyhn, M.; Hafting, T.; Treves, A.; Moser, M. & Moser, E.I. (2007), 'Hippocampal remapping and grid realignment in entorhinal cortex.', *Nature* **446**(7132), 190--194.

G

- Gavrilov, V.V.; Wiener, S.I. & Berthoz, A. (1998), 'Discharge correlates of hippocampal complex spike neurons in behaving rats passively displaced on a mobile robot.', *Hippocampus* **8**(5), 475--490.
- Geinisman, Y.; deToledo-Morrell, L. & Morrell, F. (1991), 'Induction of long-term potentiation is associated with an increase in the number of axospinous synapses with segmented postsynaptic densities.', *Brain Res* **566**(1-2), 77--88.
- Geinisman, Y.; Morrell, F. & deToledo-Morrell, L. (1992), 'Increase in the number of axospinous synapses with segmented postsynaptic densities following hippocampal kindling.', *Brain Res* **569**(2), 341--347.
- Genoux, D.; Haditsch, U.; Knobloch, M.; Michalon, A.; Storm, D. & Mansuy, I. M. (2002), 'Protein phosphatase 1 is a molecular constraint on learning and memory.', *Nature* **418**(6901), 970--975.

- Gerlai, R.; Henderson, J. T.; Roder, J. C. & Jia, Z. (1998), 'Multiple behavioral anomalies in GluR2 mutant mice exhibiting enhanced LTP.', *Behav Brain Res* **95**(1), 37--45.
- Giese, K. P.; Fedorov, N. B.; Filipkowski, R. K. & Silva, A. J. (1998), 'Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning.', *Science* **279**(5352), 870--873.
- Ginty, D. D.; Glowacka, D.; Bader, D. S.; Hidaka, H. & Wagner, J. A. (1991), 'Induction of immediate early genes by Ca²⁺ influx requires cAMP-dependent protein kinase in PC12 cells.', *J Biol Chem* **266**(26), 17454--17458.
- Goodridge, J.P. & Taube, J.S. (1995), 'Preferential use of the landmark navigational system by head direction cells in rats.', *Behav Neurosci* **109**(1), 49--61.
- Goodridge, J.P.; Dudchenko, P.A.; Worboys, K.A.; Golob, E.J. & Taube, J.S. (1998), 'Cue control and head direction cells.', *Behav Neurosci* **112**(4), 749--761.
- Gothard, K.M.; Skaggs, W.E. & McNaughton, B.L. (1996), 'Dynamics of mismatch correction in the hippocampal ensemble code for space: interaction between path integration and environmental cues.', *J Neurosci* **16**(24), 8027--8040.
- Grimm, R. & Tischmeyer, W. (1997), 'Complex patterns of immediate early gene induction in rat brain following brightness discrimination training and pseudotraining.', *Behav Brain Res* **84**(1-2), 109--116.
- Guazzelli, A.; Ragozzino, K.; Leutgeb, S.; Cooper, B.G.; Kunz, B. & Mizumori, S.J.Y. (2000), 'Firing correlates of anterior cingulate and medial precentral cortex neurons of the rat', *Soc Neurosci Abstr* **26**, 173--184.
- Guzowski, J. F.; Setlow, B.; Wagner, E. K. & McGaugh, J. L. (2001), 'Experience-dependent gene expression in the rat hippocampus after spatial learning: a comparison of the immediate-early genes Arc, c-fos, and zif268.', *J Neurosci* **21**(14), 5089--5098.
- Guzowski, J. F. (2002), 'Insights into immediate-early gene function in hippocampal memory consolidation using antisense oligonucleotide and fluorescent imaging approaches.', *Hippocampus* **12**(1), 86--104.
- Guzowski, J.F.; Knierim, J.J. & Moser, E.I. (2004), 'Ensemble Dynamics of Hippocampal Regions CA3 and CA1.', *Neuron* **44**(4), 581--584.

H

- Hafting, T.; Fyhn, M.; Molden, S.; Moser, M. & Moser, E.I. (2005), 'Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex.', *Nature* **436**(7052), 801--806.
- Hall, J.; Thomas, K. L. & Everitt, B. J. (2000), 'Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning.', *Nat Neurosci* **3**(6), 533--535.
- Hall, J.; Thomas, K. L. & Everitt, B. J. (2001), 'Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories.', *J Neurosci* **21**(6), 2186--2193.
- Halpain, S. & Greengard, P. (1990), 'Activation of NMDA receptors induces rapid dephosphorylation of the cytoskeletal protein MAP2.', *Neuron* **5**(3), 237--246.
- Hampson, R.E.; Byrd, D.R.; Konstantopoulos, J.K.; Bunn, T. & Deadwyler, S.A. (1996), 'Hippocampal place fields: relationship between degree of field overlap and cross-correlations within ensembles of hippocampal neurons.', *Hippocampus* **6**(3), 281--293.

- Hanse, E. & Gustafsson, B. (1992), 'Long-term Potentiation and Field EPSPs in the Lateral and Medial Perforant Paths in the Dentate Gyrus In Vitro: a Comparison.', *Eur J Neurosci* **4**(11), 1191-1201.
- Hargreaves, E.L.; Rao, G.; Lee, I. & Knierim, J.J. (2005), 'Major dissociation between medial and lateral entorhinal input to dorsal hippocampus.', *Science* **308**(5729), 1792--1794.
- Hasselmo, M. E.; Schnell, E. & Barkai, E. (1995), 'Dynamics of learning and recall at excitatory recurrent synapses and cholinergic modulation in rat hippocampal region CA3.', *J Neurosci* **15**(7 Pt 2), 5249--5262.
- Hasselmo, M.E.; Wyble, B.P. & Wallenstein, G.V. (1996), 'Encoding and retrieval of episodic memories: role of cholinergic and GABAergic modulation in the hippocampus', *Hippocampus* **6**(6), 693--708.
- Hermer, L. & Spelke, E. S. (1994), 'A geometric process for spatial reorientation in young children.', *Nature* **370**(6484), 57--59.
- Hermes, J.; Zurmöhl, U.; Schlingensiefen, R.; Brysch, W. & Schlingensiefen, K. H. (1994), 'Developmental expression of the transcription factor zif268 in rat brain.', *Neurosci Lett* **165**(1-2), 171--174.
- Hetherington, P.A. & Shapiro, M.L. (1997), 'Hippocampal place fields are altered by the removal of single visual cues in a distance-dependent manner.', *Behav Neurosci* **111**(1), 20--34.
- Heyman, K. (2006), 'Neuroscience. The map in the brain: grid cells may help us navigate.', *Science* **312**(5774), 680--681.
- Hill, A.J. (1978), 'First occurrence of hippocampal spatial firing in a new environment.', *Exp Neurol* **62**(2), 282--297.
- Hok, V.; Save, E.; Lenck-Santini, P.P. & Poucet, B. (2005), 'Coding for spatial goals in the prelimbic/infralimbic area of the rat frontal cortex.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**(12), 4602--4607.
- Hok V. (2007) Bases neurales des comportements orientés vers un but : Étude des corrélats de l'activité unitaire préfrontale et hippocampique dans une tâche de navigation. Ph.D. thesis, Laboratory of Neurobiology and Cognition, Université Toulouse III Paul Sabatier, France. Spécialité Neurosciences.
- Hollup, S. A.; Molden, S.; Donnett, J. G.; Moser, M. B. & Moser, E. I. (2001), 'Place fields of rat hippocampal pyramidal cells and spatial learning in the watermaze.', *Eur J Neurosci* **13**(6), 1197--1208.
- Huang, Y. Y.; Kandel, E. R.; Varshavsky, L.; Brandon, E. P.; Qi, M.; Idzerda, R. L.; McKnight, G. S. & Bourchouladze, R. (1995), 'A genetic test of the effects of mutations in PKA on mossy fiber LTP and its relation to spatial and contextual learning.', *Cell* **83**(7), 1211--1222.
- Hubel, D.H. & Wiesel, T.N. (1959), 'Receptive fields of single neurones in the cat's striate cortex.', *J Physiol* **148**, 574--591.
- Hughes, P.; Lawlor, P. & Dragunow, M. (1992), 'Basal expression of Fos, Fos-related, Jun, and Krox 24 proteins in rat hippocampus.', *Brain Res Mol Brain Res* **13**(4), 355--357.
- Hupbach, A.; Gomez, R.; Hardt, O. & Nadel, L. (2007), 'Reconsolidation of episodic memories: a subtle reminder triggers integration of new information.', *Learn Mem* **14**(1-2), 47--53.

I

Impey, S.; Mark, M.; Villacres, E. C.; Poser, S.; Chavkin, C. & Storm, D. R. (1996), 'Induction of CRE-mediated gene expression by stimuli that generate long-lasting LTP in area CA1 of the hippocampus.', *Neuron* **16**(5), 973--982.

Ivanco, T. L. & Racine, R. J. (2000), 'Long-term potentiation in the reciprocal corticohippocampal and corticocortical pathways in the chronically implanted, freely moving rat.', *Hippocampus* **10**(2), 143--152.

J

Jaffard, R.; Bontempi, B.; Laurent-Demir, C. & Destrade, C. (1998), '[Memory consolidation and the hippocampal system]', *C R Acad Sci III* **321**(2-3), 163--166.

Jarvis, E. D.; Mello, C. V. & Nottebohm, F. (1995), 'Associative learning and stimulus novelty influence the song-induced expression of an immediate early gene in the canary forebrain.', *Learn Mem* **2**(2), 62--80.

Jarvis, E. D.; Güntürkün, O.; Bruce, L.; Csillag, A.; Karten, H.; Kuenzel, W.; Medina, L.; Paxinos, G.; Perkel, D. J.; Shimizu, T.; Striedter, G.; Wild, J. M.; Ball, G. F.; Dugas-Ford, J.; Durand, S. E.; Hough, G. E.; Husband, S.; Kubikova, L.; Lee, D. W.; Mello, C. V.; Powers, A.; Siang, C.; Smulders, T. V.; Wada, K.; White, S. A.; Yamamoto, K.; Yu, J.; Reiner, A.; Butler, A. B. & Consortium, A. B. N. (2005), 'Avian brains and a new understanding of vertebrate brain evolution.', *Nat Rev Neurosci* **6**(2), 151--159.

Jay, T.M.; Glowinski, J. & Thierry, A.-M. (1989), 'Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat.', *Brain Res* **505**(2), 337--340.

Jay, T.M. & Witter, M.P. (1991), 'Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin.', *J Comp Neurol* **313**(4), 574--586.

Jeffery, K.J. & O'Keefe, J.M. (1999), 'Learned interaction of visual and idiothetic cues in the control of place field orientation.', *Exp Brain Res* **127**(2), 151--161.

Jeffery, K.J.; Gilbert, A.; Burton, S. & Strudwick, A. (2003), 'Preserved performance in a hippocampal-dependent spatial task despite complete place cell remapping', *Hippocampus* **13**(2), 175--189.

Jeffery, K.J. & Hayman, R. (2004), 'Plasticity of the hippocampal place cell representation.', *Rev Neurosci* **15**(5), 309--331.

Jones, M.W.; Errington, M.L.; French, P.J.; Fine, A.; Bliss, T.V.; Garel, S.; Charnay, P.; Bozon, B.; Laroche, S. & Davis, S. (2001), 'A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories.', *Nat Neurosci* **4**(3), 289--296.

Jung, M.W. & McNaughton, B.L. (1993), 'Spatial selectivity of unit activity in the hippocampal granular layer.', *Hippocampus* **3**(2), 165--182.

Jung, M.W.; Wiener, S.I. & McNaughton, B.L. (1994), 'Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat', *The Journal Of Neuroscience: The Official Journal Of The Society For Neuroscience* **14**(12), 7347--7356.

K

- Kelly, A.; Laroche, S. & Davis, S. (2003), 'Activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in hippocampal circuitry is required for consolidation and reconsolidation of recognition memory.', *J Neurosci* **23**(12), 5354--5360.
- Kentros, C.G.; Hargreaves, E.; Hawkins, R.D.; Kandel, E.R.; Shapiro, M. & Muller, R.U. (1998), 'Abolition of long-term stability of new hippocampal place cell maps by NMDA receptor blockade.', *Science* **280**(5372), 2121--2126.
- Kentros, C.G.; Agnihotri, N.T.; Streater, S.; Hawkins, R.D. & Kandel, E.R. (2004), 'Increased attention to spatial context increases both place field stability and spatial memory.', *Neuron* **42**(2), 283--295.
- Kim, J. J. & Fanselow, M. S. (1992), 'Modality-specific retrograde amnesia of fear.', *Science* **256**(5057), 675--677.
- Kim, J. J.; Lee, H. J.; Welday, A. C.; Song, E.; Cho, J.; Sharp, P. E.; Jung, M. W. & Blair, H. T. (2007), 'Stress-induced alterations in hippocampal plasticity, place cells, and spatial memory.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**(46), 18297--18302.
- Kloosterman, F.; Witter, M.P. & Haeflén, T.V. (2003), 'Topographical and laminar organization of subicular projections to the parahippocampal region of the rat.', *J Comp Neurol* **455**(2), 156--171.
- Knapaska, E. & Kaczmarek, L. (2004), 'A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK?', *Prog Neurobiol* **74**(4), 183--211.
- Knierim, J.J.; Kudrimoti, H.S. & McNaughton, B.L. (1995), 'Place cells, head direction cells, and the learning of landmark stability.', *J Neurosci* **15**(3 Pt 1), 1648--1659.
- Knierim, J.J.; Kudrimoti, H.S. & McNaughton, B.L. (1998), 'Interactions between idiothetic cues and external landmarks in the control of place cells and head direction cells.', *J Neurophysiol* **80**(1), 425--446.
- Knierim, J.J.; McNaughton, B.L. & Poe, G.R. (2000), 'Three-dimensional spatial selectivity of hippocampal neurons during space flight', *Nature Neuroscience* **3**(3), 209--210.
- Knierim, J. J. (2002), 'Dynamic interactions between local surface cues, distal landmarks, and intrinsic circuitry in hippocampal place cells.', *J Neurosci* **22**(14), 6254--6264.
- Knierim, J.J. (2003), 'Hippocampus and memory. Can we have our place and fear it too?', *Neuron* **37**(3), 372--374.
- Knierim, J.J. (2006), 'Neural representations of location outside the hippocampus.', *Learn Mem* **13**(4), 405--415.
- Kobayashi, T.; Nishijo, H.; Fukuda, M.; s, J.B. & Ono, T. (1997), 'Task-dependent representations in rat hippocampal place neurons.', *J Neurophysiol* **78**(2), 597--613.
- Koyano, K.; Kuba, K. & Minota, S. (1985), 'Long-term potentiation of transmitter release induced by repetitive presynaptic activities in bull-frog sympathetic ganglia.', *J Physiol* **359**, 219--233.
- Krug, M.; Lössner, B. & Ott, T. (1984), 'Anisomycin blocks the late phase of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats.', *Brain Res Bull* **13**(1), 39--42.
- Kubie, J. L. (1984), 'A driveable bundle of microwires for collecting single-unit data from freely-moving rats.', *Physiol Behav* **32**(1), 115--118.

Kubie, J.L. & Muller, R.U. (1991), 'Multiple representations in the hippocampus.', *Hippocampus* **1**(3), 240--242.

Kumaran, D. & Maguire, E. A. (2007), 'Which computational mechanisms operate in the hippocampus during novelty detection?', *Hippocampus* **17**(9), 735--748.

Kumaran, D. & Maguire, E. A. (2007), 'Match mismatch processes underlie human hippocampal responses to associative novelty.', *J Neurosci* **27**(32), 8517--8524.

L

Lanahan, A. & Worley, P. (1998), 'Immediate-early genes and synaptic function.', *Neurobiol Learn Mem* **70**(1-2), 37--43.

Laroche, S.; Davis, S. & Jay, T.M. (2000), 'Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: dual roles in working memory and consolidation.', *Hippocampus* **10**(4), 438--446.

Larson, J.R. & Lynch, G. (1985), 'Long-term potentiation in the lizard cerebral cortex.', Soc. Neurosci. Abst., **11**:a225.2.

Lavenex, P. & Schenk, F. (1995), 'Influence of local environmental olfactory cues on place learning in rats.', *Physiology and Behavior* **58**, 1059--1066.

Lavenex, P. & Schenk, F. (1997), 'Olfactory cues potentiate learning of distant visuospatial information.', *Neurobiol Learn Mem* **68**(2), 140--153.

Lavenex, P. & Amaral, D. G. (2000), 'Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity.', *Hippocampus* **10**(4), 420--430.

Lavoie, A.M. & Mizumori, S.J.Y. (1994), 'Spatial, movement- and reward-sensitive discharge by medial ventral striatum neurons of rats.', *Brain Res* **638**(1-2), 157--168.

Lee, I. & Kesner, R.P. (2002), 'Differential contribution of NMDA receptors in hippocampal subregions to spatial working memory.', *Nat Neurosci* **5**(2), 162--168.

Lee, I.; Rao, G. & Knierim, J.J. (2004), 'A double dissociation between hippocampal subfields: differential time course of CA3 and CA1 place cells for processing changed environments.', *Neuron* **42**(5), 803--815.

Lenck-Santini, P.-P.; Save, E. & Poucet, B. (2001), 'Evidence for a relationship between place-cell spatial firing and spatial memory performance', *Hippocampus* **11**(4), 377--390.

Lenck-Santini, P.-P.; Rivard, B.; Muller, R.U. & Poucet, B. (2005), 'Study of CA1 place cell activity and exploratory behavior following spatial and nonspatial changes in the environment.', *Hippocampus* **15**(3), 356--369.

Leonard, B. & McNaughton, B.L. (1990), 'Spatial representation in the rat : Conceptual, Behavioral, and neurophysiological perspectives.' In: R.P. Kesner et D.S. Olton (Eds.), *Neurobiology of comparative cognition*. Hillsdale, NJ : Erlbaum, 363--422.

Leutgeb, S.; Ragozzino, K.E. & Mizumori, S.J.Y. (2000), 'Convergence of head direction and place information in the CA1 region of hippocampus.', *Neuroscience* **100**(1), 11--19.

Leutgeb, S.; Leutgeb, J.K.; Treves, A.; Moser, M. & Moser, E.I. (2004), 'Distinct ensemble codes in hippocampal areas CA3 and CA1', *Science* **305**(5688), 1295--1298.

Leutgeb, S.; Leutgeb, J.K.; Barnes, C.A.; Moser, E.I.; McNaughton, B.L. & Moser, M. (2005), 'Independent Codes for Spatial and Episodic Memory in Hippocampal Neuronal Ensembles', *Science* **309**(5734), 619--623.

Leutgeb, J. K.; Leutgeb, S.; Treves, A.; Meyer, R.; Barnes, C. A.; McNaughton, B. L.; Moser, M. & Moser, E. I. (2005a), 'Progressive transformation of hippocampal neuronal representations in "morphed" environments.', *Neuron* **48**(2), 345--358.

Leutgeb, S.; Leutgeb, J.K.; Moser, M. & Moser, E.I. (2005b), 'Place cells, spatial maps and the population code for memory.', *Curr Opin Neurobiol* **15**(6), 738--746.

Leutgeb, S.; Leutgeb, J. K.; Moser, E. I. & Moser, M. (2006), 'Fast rate coding in hippocampal CA3 cell ensembles.', *Hippocampus* **16**(9), 765--774.

Leutgeb, J.K.; Leutgeb, S.; Moser, M. & Moser, E.I. (2007), 'Pattern separation in the dentate gyrus and CA3 of the hippocampus.', *Science* **315**(5814), 961--966.

Lever, C.; Wills, T.; Cacucci, F.; Burgess, N. & O'Keefe, J. (2002), 'Long-term plasticity in hippocampal place-cell representation of environmental geometry', *Nature* **416**(6876), 90--94.

Lewis, D. J.; Misanin, J. R. & Miller, R. R. (1968), 'Recovery of memory following amnesia.', *Nature* **220**(5168), 704--705.

Lewis, D. J. (1979), 'Psychobiology of active and inactive memory.', *Psychol Bull* **86**(5), 1054--1083.

Lewis, D. & Teyler, T. J. (1986), 'Anti-S-100 serum blocks long-term potentiation in the hippocampal slice.', *Brain Res* **383**(1-2), 159--164.

Liu, G. & Tsien, R. W. (1995), 'Synaptic transmission at single visualized hippocampal boutons.', *Neuropharmacology* **34**(11), 1407--1421.

Ludvig, N.; Tang, H. M.; Gohil, B. C. & Botero, J. M. (2004), 'Detecting location-specific neuronal firing rate increases in the hippocampus of freely-moving monkeys.', *Brain Res* **1014**(1-2), 97--109.

Lynch, G.; Larson, J.; Kelso, S.; Barrionuevo, G. & Schottler, F. (1983), 'Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation.', *Nature* **305**(5936), 719--721.

Lynch, M. A. (2004), 'Long-term potentiation and memory.', *Physiol Rev* **84**(1), 87--136.

M

Mack, K.; Day, M.; Milbrandt, J. & Gottlieb, D. I. (1990), 'Localization of the NGFI-A protein in the rat brain.', *Brain Res Mol Brain Res* **8**(2), 177--180.

Mackler, S. A.; Brooks, B. P. & Eberwine, J. H. (1992), 'Stimulus-induced coordinate changes in mRNA abundance in single postsynaptic hippocampal CA1 neurons.', *Neuron* **9**(3), 539--548.

Mactutus, C. F.; Riccio, D. C. & Ferek, J. M. (1979), 'Retrograde amnesia for old (reactivated) memory: some anomalous characteristics.', *Science* **204**(4399), 1319--1320.

MacVicar, B. A. & Dudek, F. E. (1980), 'Local synaptic circuits in rat hippocampus: interactions between pyramidal cells.', *Brain Res* **184**(1), 220--223.

Maguire, E. A.; Frackowiak, R. S. & Frith, C. D. (1997), 'Recalling routes around london: activation of the right hippocampus in taxi drivers.', *J Neurosci* **17**(18), 7103--7110.

Maguire, E. A.; Gadian, D. G.; Johnsrude, I. S.; Good, C. D.; Ashburner, J.; Frackowiak, R. S. &

- Frith, C. D. (2000), 'Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**(8), 4398--4403.
- Maletic-Savatic, M.; Malinow, R. & Svoboda, K. (1999), 'Rapid dendritic morphogenesis in CA1 hippocampal dendrites induced by synaptic activity.', *Science* **283**(5409), 1923--1927.
- Malinow, R.; Schulman, H. & Tsien, R. W. (1989), 'Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP.', *Science* **245**(4920), 862--866.
- Malkani, S. & Rosen, J. B. (2000), 'Differential expression of EGR-1 mRNA in the amygdala following diazepam in contextual fear conditioning.', *Brain Res* **860**(1-2), 53--63.
- Manns, J. R.; Hopkins, R. O.; Reed, J. M.; Kitchener, E. G. & Squire, L. R. (2003), 'Recognition memory and the human hippocampus.', *Neuron* **37**(1), 171--180.
- Margules, J. & Gallistel, C.R. (1988), 'Heading in the rat: Determination by environmental shape.', *Animal Learning and Behavior* **16**, 404--410.
- Markus, E.J.; Barnes, C.A.; McNaughton, B.L.; Gladden, V.L. & Skaggs, W.E. (1994), 'Spatial information content and reliability of hippocampal CA1 neurons: effects of visual input.', *Hippocampus* **4**(4), 410--421.
- Markus, E.; Qin, Y.; Leonard, B.; Skaggs, W.; McNaughton, B. & Barnes, C. (1995), 'Interactions between location and task affect the spatial and directional firing of hippocampal neurons.', *The Journal Of Neuroscience* **15**(11), 7079--7094.
- Marr, D. (1969), 'A theory of cerebellar cortex.', *J Physiol* **202**(2), 437--470.
- Matsuo, N.; Reijmers, L. & Mayford, M. (2008), 'Spine-type-specific recruitment of newly synthesized AMPA receptors with learning.', *Science* **319**(5866), 1104--1107.
- Matthews, D.B. & Best, P.J. (1997), 'Evidence for the flexible use of spatial knowledge in the rat.', *Psychobiology* **25**, 294--302.
- Mayer, M. L. & Westbrook, G. L. (1984), 'Mixed-agonist action of excitatory amino acids on mouse spinal cord neurones under voltage clamp.', *J Physiol* **354**, 29--53.
- McClelland, J. L. & Goddard, N. H. (1996), 'Considerations arising from a complementary learning systems perspective on hippocampus and neocortex.', *Hippocampus* **6**(6), 654--665.
- McFarland, W.L.; Teitelbaum, H. & Hedges, E.K. (1975), 'Relationship between hippocampal theta activity and running speed in the rat.', *J Comp Physiol Psychol* **88**(1), 324--328.
- McHugh, T.J.; Blum, K.I.; Tsien, J.Z.; Tonegawa, S. & Wilson, M.A. (1996), 'Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice.', *Cell* **87**(7), 1339--1349.
- McHugh, T.J.; Jones, M.W.; Quinn, J.J.; Balthasar, N.; Coppari, R.; Elmquist, J.K.; Lowell, B.B.; Fanselow, M.S.; Wilson, M.A. & Tonegawa, S. (2007), 'Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network.', *Science* **317**(5834), 94--99.
- McNaughton, B.L.; Barnes, C.A. & O'Keefe, J. (1983), 'The contributions of position, direction, and velocity to single unit activity in the hippocampus of freely-moving rats.', *Exp Brain Res* **52**(1), 41--49.
- McNaughton, B. L.; Barnes, C. A.; Rao, G.; Baldwin, J. & Rasmussen, M. (1986), 'Long-term enhancement of hippocampal synaptic transmission and the acquisition of spatial information.', *J Neurosci* **6**(2), 563--571.

- McNaughton, N. & Morris, R. G. (1987), 'Chlordiazepoxide, an anxiolytic benzodiazepine, impairs place navigation in rats.', *Behav Brain Res* **24**(1), 39--46.
- McNaughton, B. L.; Mizumori, S. J.; Barnes, C. A.; Leonard, B. J.; Marquis, M. & Green, E. J. (1994), 'Cortical representation of motion during unrestrained spatial navigation in the rat.', *Cereb Cortex* **4**(1), 27--39.
- McNaughton, B.L.; Barnes, C.A.; Gerrard, J.L.; Gothard, K.; Jung, M.W.; Knierim, J.J.; Kudrimoti, H.; Qin, Y.; Skaggs, W.E.; Suster, M. & Weaver, K.L. (1996), 'Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system.', *J Exp Biol* **199** (Pt 1), 173--185.
- McNaughton, B.L.; Battaglia, F.P.; Jensen, O.; Moser, E.I. & Moser, M. (2006), 'Path integration and the neural basis of the 'cognitive map'', *Nat Rev Neurosci* **7**(8), 663--678.
- McDaniel, W.F.; McDaniel, S.E. & Thomas, R.K. (1978), 'Thalamocortical projections of the temporal and parietal association cortices in the rat.', *Neurosci Lett* **7**, 121--125.
- Mello, C. V.; Vicario, D. S. & Clayton, D. F. (1992), 'Song presentation induces gene expression in the songbird forebrain.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**(15), 6818--6822.
- Migaud, M.; Charlesworth, P.; Dempster, M.; Webster, L. C.; Watabe, A. M.; Makhinson, M.; He, Y.; Ramsay, M. F.; Morris, R. G.; Morrison, J. H.; O'Dell, T. J. & Grant, S. G. (1998), 'Enhanced long-term potentiation and impaired learning in mice with mutant postsynaptic density-95 protein.', *Nature* **396**(6710), 433--439.
- Milbrandt, J. (1987), 'A nerve growth factor-induced gene encodes a possible transcriptional regulatory factor.', *Science* **238**(4828), 797--799.
- Miles, R. & Wong, R. K. (1986), 'Excitatory synaptic interactions between CA3 neurones in the guinea-pig hippocampus.', *J Physiol* **373**, 397--418.
- Miller, M. W. & Vogt, B. A. (1984), 'Direct connections of rat visual cortex with sensory, motor, and association cortices.', *J Comp Neurol* **226**(2), 184--202.
- Mills, A. A. (2001), 'Changing colors in mice: an inducible system that delivers.', *Genes Dev* **15**(12), 1461--1467.
- Minota, S.; Kumamoto, E.; Kitakoga, O. & Kuba, K. (1991), 'Long-term potentiation induced by a sustained rise in the intraterminal Ca²⁺ in bull-frog sympathetic ganglia.', *J Physiol* **435**, 421--438.
- Misanin, J. R.; Miller, R. R. & Lewis, D. J. (1968), 'Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace.', *Science* **160**(827), 554--555.
- Mittelstaedt, M. L. & Mittelstaedt, H. (2001), 'Idiothetic navigation in humans: estimation of path length.', *Exp Brain Res* **139**(3), 318--332.
- Mizumori, S. J.; McNaughton, B. L.; Barnes, C. A. & Fox, K. B. (1989), 'Preserved spatial coding in hippocampal CA1 pyramidal cells during reversible suppression of CA3c output: evidence for pattern completion in hippocampus.', *J Neurosci* **9**(11), 3915--3928.
- Mizumori, S.J.Y. & Williams, J.D. (1993), 'Directionally selective mnemonic properties of neurons in the lateral dorsal nucleus of the thalamus of rats.', *J Neurosci* **13**(9), 4015--4028.
- Mizumori, S.J.Y.; Ragozzino, K.E. & Cooper, B.G. (2000), 'Location and head direction representation in the dorsal striatum of rats.', *Psychobiology* **28**, 441--462.
- Moita, M.A.P.; Rosis, S.; Zhou, Y.; LeDoux, J.E. & Blair, H.T. (2004), 'Putting fear in its place: remapping of hippocampal place cells during fear conditioning.', *J Neurosci* **24**(31), 7015--7023.

Morris, R.G.M. (1981), 'Spatial localization does not require the presence of local cues.', *Learn Motiv* **12**, 239--260

Morris, R.G.; Garrud, P.; Rawlins, J.N. & O'Keefe, J. (1982), 'Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions.', *Nature* **297**(5868), 681--683.

Morris, R. G.; Anderson, E.; Lynch, G. S. & Baudry, M. (1986), 'Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5.', *Nature* **319**(6056), 774--776.

Muir, J. L.; Fischer, W. & Björklund, A. (1999), 'Decline in visual attention and spatial memory in aged rats.', *Neurobiol Aging* **20**(6), 605--615.

Mulder, A. B.; Shibata, R.; Trullier, O. & Wiener, S. I. (2005), 'Spatially selective reward site responses in tonically active neurons of the nucleus accumbens in behaving rats.', *Exp Brain Res* **163**(1), 32--43.

Mulkey, R. M.; Herron, C. E. & Malenka, R. C. (1993), 'An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression.', *Science* **261**(5124), 1051--1055.

Muller, R. & Kubie, J. (1987), 'The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells.', *J Neurosci* **7**(7), 1951--1968.

Muller, R.U.; Kubie, J.L. & Ranck, J.B. (1987), 'Spatial firing patterns of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment.', *J Neurosci* **7**(7), 1935--1950.

Muller, R.U.; Kubie, J.L. & Saypoff, R. (1991), 'The hippocampus as a cognitive graph (abridged version).', *Hippocampus* **1**(3), 243--246.

Muller, R.U.; Bostock, E.; Taube, J.S. & Kubie, J.L. (1994), 'On the directional firing properties of hippocampal place cells.', *J Neurosci* **14**(12), 7235--7251.

Muller, R.U.; Poucet, B. & Rivard, B. (2001), 'Sensory determinants of hippocampal place cell firing fields, in P E Sharp, ed., 'The neural basis of navigation: evidence from single-cell recording', Norwell, MA: Kluwer Academic, , pp. 1--22.

Myers, K. M. & Davis, M. (2002), 'Systems-level reconsolidation: reengagement of the hippocampus with memory reactivation.', *Neuron* **36**(3), 340--343.

N

Naber, P.A.; Witter, M.P. & Silva, F.H.L.d. (1999), 'Perirhinal cortex input to the hippocampus in the rat: evidence for parallel pathways, both direct and indirect. A combined physiological and anatomical study.', *Eur J Neurosci* **11**(11), 4119--4133.

Naber, P. A.; da Silva, F. H. L. & Witter, M. P. (2001), 'Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum.', *Hippocampus* **11**(2), 99--104.

Nadel, L. (1991), 'Forum: Is the hippocampal formation preferentially involved in spatial behavior?', *Hippocampus* **1**, 221--292.

Nader, K.; Schafe, G. E. & LeDoux, J. E. (2000), 'The labile nature of consolidation theory.', *Nat Rev Neurosci* **1**(3), 216--219.

Nader, K. (2003), 'Memory traces unbound.', *Trends Neurosci* **26**(2), 65--72.

Nakazawa, K.; Quirk, M.C.; Chitwood, R.A.; Watanabe, M.; Yeckel, M.F.; Sun, L.D.; Kato, A.; Carr, C.A.; Johnston, D.; Wilson, M.A. & Tonegawa, S. (2002), 'Requirement for hippocampal CA3 NMDA receptors in associative memory recall.', *Science* **297**(5579), 211--218.

Nakazawa, K.; McHugh, T.J.; Wilson, M.A. & Tonegawa, S. (2004), 'NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory.', *Nat Rev Neurosci* **5**(5), 361--372.

Nguyen, P. V.; Abel, T. & Kandel, E. R. (1994), 'Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP.', *Science* **265**(5175), 1104--1107.

Nikolaev, E.; Kaminska, B.; Tischmeyer, W.; Matthies, H. & Kaczmarek, L. (1992), 'Induction of expression of genes encoding transcription factors in the rat brain elicited by behavioral training.', *Brain Res Bull* **28**(3), 479--484.

Nikolaev, E.; Werka, T. & Kaczmarek, L. (1992), 'C-fos protooncogene expression in rat brain after long-term training of two-way active avoidance reaction.', *Behav Brain Res* **48**(1), 91--94.

Nosten-Bertrand, M.; Errington, M. L.; Murphy, K. P.; Tokugawa, Y.; Barboni, E.; Kozlova, E.; Michalovich, D.; Morris, R. G.; Silver, J.; Stewart, C. L.; Bliss, T. V. & Morris, R. J. (1996), 'Normal spatial learning despite regional inhibition of LTP in mice lacking Thy-1.', *Nature* **379**(6568), 826--829.

O

O'Donovan, K. J.; Tourtellotte, W. G.; Millbrandt, J. & Baraban, J. M. (1999), 'The EGR family of transcription-regulatory factors: progress at the interface of molecular and systems neuroscience.', *Trends Neurosci* **22**(4), 167--173.

O'Keefe, J. & Dostrovsky, J. (1971), 'The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat.', *Brain Res* **34**(1), 171-5.

O'Keefe, J.; Nadel, L.; Keightley, S. & Kill, D. (1975), 'Fornix lesions selectively abolish place learning in the rat.', *Exp Neurol* **48**(1), 152--166.

O'Keefe, J. & Conway, D.H. (1978), 'Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire.', *Exp Brain Res* **31**(4), 573--590.

O'Keefe J. & Nadel L. (1978), 'Hippocampus as a Cognitive Map', Oxford: Clarendon.

O'Keefe, J. & Speakman, A. (1987), 'Single unit activity in the rat hippocampus during a spatial memory task.', *Exp Brain Res* **68**(1), 1--27.

O'Keefe, J. & Recce, M.L. (1993), 'Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm.', *Hippocampus* **3**(3), 317--330.

O'Keefe, J. & Burgess, N. (1996), 'Geometric determinants of the place fields of hippocampal neurons.', *Nature* **381**(6581), 425--428.

O'Keefe, J.; Burgess, N.; Donnett, J.G.; Jeffery, K.J. & Maguire, E.A. (1998), 'Place cells, navigational accuracy, and the human hippocampus.', *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **353**(1373), 1333--1340.

Okabe, S.; Collin, C.; Auerbach, J. M.; Meiri, N.; Bengzon, J.; Kennedy, M. B.; Segal, M. & McKay, R. D. (1998), 'Hippocampal synaptic plasticity in mice overexpressing an embryonic subunit of the NMDA receptor.', *J Neurosci* **18**(11), 4177--4188.

Okuno, H. & Miyashita, Y. (1996), 'Expression of the transcription factor Zif268 in the temporal cortex of monkeys during visual paired associate learning.', *Eur J Neurosci* **8**(10), 2118--2128.

Olton, D.S.; Walker, J.A. & Gage, F.H. (1978), 'Hippocampal connections and spatial discrimination.', *Brain Res* **139**, 295--308.

Olypher, A.V.; Lánský, P. & Fenton, A.A. (2002), 'Properties of the extra-positional signal in hippocampal place cell discharge derived from the overdispersion in location-specific firing.', *Neuroscience* **111**(3), 553--566.

Ono, T.; Nakamura, K.; Nishijo, H. & Eifuku, S. (1993), 'Monkey hippocampal neurons related to spatial and nonspatial functions.', *J Neurophysiol* **70**(4), 1516--1529.

Oswald, C.J.P.; Bannerman, D.M.; Yee, B.K.; Rawlins, J.N.P.; Honey, R.C. & Good, M. (2003), 'Entorhinal cortex lesions disrupt the transition between the use of intra- and extramaze cues for navigation in the water maze.', *Behav Neurosci* **117**(3), 588--595.

Otto, T. & Eichenbaum, H. (1992), 'Neuronal activity in the hippocampus during delayed non-match to sample performance in rats: evidence for hippocampal processing in recognition memory.', *Hippocampus* **2**(3), 323--334.

P

Packard, M. G. & Knowlton, B. J. (2002), 'Learning and memory functions of the Basal Ganglia.', *Annu Rev Neurosci* **25**, 563--593.

Parron, C. & Save, E. (2004), 'Comparison of the effects of entorhinal and retrosplenial cortical lesions on habituation, reaction to spatial and non-spatial changes during object exploration in the rat.', *Neurobiol Learn Mem* **82**(1), 1--11.

Pastalkova, E.; Serrano, P.; Pinkhasova, D.; Wallace, E.; Fenton, A. A. & Sacktor, T. C. (2006), 'Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP.', *Science* **313**(5790), 1141--1144.

Paz-Villagrán, V.; Lenck-Santini, P.-P.; Save, E. & Poucet, B. (2002), 'Properties of place cell firing after damage to the visual cortex.', *Eur J Neurosci* **16**(4), 771--776.

Paz-Villagrán, V.; Save, E. & Poucet, B. (2004), 'Independent coding of connected environments by place cells.', *Eur J Neurosci* **20**(5), 1379--1390.

Phillips, R. G. & LeDoux, J. E. (1992), 'Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning.', *Behav Neurosci* **106**(2), 274--285.

Plath, N.; Ohana, O.; Dammermann, B.; Errington, M. L.; Schmitz, D.; Gross, C.; Mao, X.; Engelsberg, A.; Mahlke, C.; Welzl, H.; Kobalz, U.; Stawrakakis, A.; Fernandez, E.; Waltereit, R.; Bick-Sander, A.; Therstappen, E.; Cooke, S. F.; Blanquet, V.; Wurst, W.; Salmen, B.; Bösl, M. R.; Lipp, H.; Grant, S. G. N.; Bliss, T. V. P.; Wolfer, D. P. & Kuhl, D. (2006), 'Arc/Arg3.1 is essential for the consolidation of synaptic plasticity and memories.', *Neuron* **52**(3), 437--444.

Poucet, B.; Thinus-Blanc, C. & Chapuis, N. (1983), 'Route-planning in cats, in relation to the visibility of the goal.', *Animal Behaviour* **31**, 594--599.

Poucet, B., Chapuis, N., Durup, M. & Thinus-Blanc, C. (1986). 'A study of exploratory behavior as an index of spatial knowledge in hamsters.', *Animal Learning and Behavior* **14**, 93--100.

Poucet, B.; Thinus-Blanc, C. & Muller, R.U. (1994), 'Place cells in the ventral hippocampus of rats', *Neuroreport* **5**(16), 2045--2048.

Poucet, B. & Benhamou, S. (1997), 'The neuropsychology of spatial cognition in the rat.', *Crit Rev Neurobiol* **11**(2-3), 101--120.

Poucet, B. & Save, E. (2005), 'Neuroscience. Attractors in memory.', *Science* **308**(5723), 799-800.

Przybylski, J. & Sara, S. J. (1997), 'Reconsolidation of memory after its reactivation.', *Behav Brain Res* **84**(1-2), 241--246.

Q

Quevedo, J.; Vianna, M. R.; Roesler, R.; de-Paris, F.; Izquierdo, I. & Rose, S. P. (1999), 'Two time windows of anisomycin-induced amnesia for inhibitory avoidance training in rats: protection from amnesia by pretraining but not pre-exposure to the task apparatus.', *Learn Mem* **6**(6), 600--607.

Quirk, G.J.; Muller, R.U. & Kubie, J.L. (1990), 'The firing of hippocampal place cells in the dark depends on the rat's recent experience.', *J Neurosci* **10**(6), 2008--2017.

Quirk, G.J.; Muller, R.U.; Kubie, J.L. & Ranck, J.B. (1992), 'The positional firing properties of medial entorhinal neurons: description and comparison with hippocampal place cells.', *J Neurosci* **12**(5), 1945--1963.

R

Ragozzino, K. E.; Leutgeb, S. & Mizumori, S. J. (2001), 'Dorsal striatal head direction and hippocampal place representations during spatial navigation.', *Exp Brain Res* **139**(3), 372--376.

Rampon, C.; Tang, Y. P.; Goodhouse, J.; Shimizu, E.; Kiyin, M. & Tsien, J. Z. (2000), 'Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice.', *Nat Neurosci* **3**(3), 238--244.

Ranck, J.B. (1973), 'Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. I. Behavioral correlates and firing repertoires.', *Exp Neurol* **41**(2), 461--531.

Ranck, J.B. (1984), 'Head direction cells in the deep cell layer of dorsal presubiculum in freely moving rats', *Soc Neurosci Abstr* **10**, 599.

Redish, A.D.; Battaglia, F.P.; Chawla, M.K.; Ekstrom, A.D.; Gerrard, J.L.; Lipa, P.; Rosenzweig, E.S.; Worley, P.F.; Guzowski, J.F.; McNaughton, B.L. & Barnes, C.A. (2001), 'Independence of firing correlates of anatomically proximate hippocampal pyramidal cells.', *J Neurosci* **21**(5), RC134.

Renaudineau, S.; Poucet, B. & Save, E. (2007), 'Flexible use of proximal objects and distal cues by hippocampal place cells.', *Hippocampus* **17**(5), 381--395.

Richardson, C. L.; Tate, W. P.; Mason, S. E.; Lawlor, P. A.; Dragunow, M. & Abraham, W. C. (1992), 'Correlation between the induction of an immediate early gene, zif/268, and long-term potentiation in the dentate gyrus.', *Brain Res* **580**(1-2), 147--154.

Richter-Levin, G.; Thomas, K. L.; Hunt, S. P. & Bliss, T. V. (1998), 'Dissociation between genes activated in long-term potentiation and in spatial learning in the rat.', *Neurosci Lett* **251**(1), 41--44.

Rivard, B.; Li, Y.; Lenck-Santini, P.; Poucet, B. & Muller, R.U. (2004), 'Representation of objects in space by two classes of hippocampal pyramidal cells.', *J Gen Physiol* **124**(1), 9--25.

Roberts, L. A.; Higgins, M. J.; O'Shaughnessy, C. T.; Stone, T. W. & Morris, B. J. (1996), 'Changes in hippocampal gene expression associated with the induction of long-term potentiation.', *Brain Res Mol Brain Res* **42**(1), 123--127.

Robinson, T. E. (1980), 'Hippocampal rhythmic slow activity (RSA; theta): a critical analysis of selected studies and discussion of possible species-differences.', *Brain Res* **203**(1), 69--101.

Rolls, E. T.; Robertson, R. G. & Georges-François, P. (1997), 'Spatial view cells in the primate hippocampus.', *Eur J Neurosci* **9**(8), 1789--1794.

Rolls, E. T. (1999), 'Spatial view cells and the representation of place in the primate hippocampus.', *Hippocampus* **9**(4), 467--480.

Rolls, E.T. & Kesner, R.P. (2006), 'A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory.', *Prog Neurobiol* **79**(1), 1-48.

Rolls, E.T. (2007), 'An attractor network in the hippocampus: theory and neurophysiology.', *Learn Mem* **14**(11), 714--731.

Rossier, J.; Haerberli, C. & Schenk, F. (2000), 'Auditory cues support place navigation in rats when associated with a visual cue.', *Behav Brain Res* **117**(1-2), 209--214.

Rotenberg, A.; Mayford, M.; Hawkins, R. D.; Kandel, E. R. & Muller, R. U. (1996), 'Mice expressing activated CaMKII lack low frequency LTP and do not form stable place cells in the CA1 region of the hippocampus.', *Cell* **87**(7), 1351--1361.

Rotenberg, A. & Muller, R.U. (1997), 'Variable place-cell coupling to a continuously viewed stimulus: evidence that the hippocampus acts as a perceptual system.', *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **352**(1360), 1505--1513.

Rotenberg, A.; Abel, T.; Hawkins, R. D.; Kandel, E. R. & Muller, R. U. (2000), 'Parallel instabilities of long-term potentiation, place cells, and learning caused by decreased protein kinase A activity.', *J Neurosci* **20**(21), 8096--8102.

S

Sakurai, Y. (1994), 'Involvement of auditory cortical and hippocampal neurons in auditory working memory and reference memory in the rat.', *J Neurosci* **14**(5 Pt 1), 2606--2623.

Sakurai, Y. (1996), 'Hippocampal and neocortical cell assemblies encode memory processes for different types of stimuli in the rat.', *J Neurosci* **16**(8), 2809--2819.

Samsonovich, A. & McNaughton, B. L. (1997), 'Path integration and cognitive mapping in a continuous attractor neural network model.', *J Neurosci* **17**(15), 5900--5920.

Samsonovich, A. V. & Nadel, L. (2005), 'Fundamental principles and mechanisms of the conscious self.', *Cortex* **41**(5), 669--89; discussion 731-4.

Sara, S. J. (2000), 'Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering.', *Learn Mem* **7**(2), 73--84.

Sargolini, F.; Fyhn, M.; Hafting, T.; McNaughton, B.L.; Witter, M.P.; Moser, M. & Moser, E.I. (2006), 'Conjunctive representation of position, direction, and velocity in entorhinal cortex', *Science* **312**(5774), 758--762.

Sargolini, F.; Boccara, C.; Witter, M.P.; Moser, M.B. & Moser, E.I. (2006a), 'Grid cells outside the medial entorhinal cortex.', *Soc Neurosci Abs* **68**.11.

Sargolini, F. & Moser, E.I. (2007), Entorhinal grid cells and the representation of space, in B Bontempi; A J Silva & Y Christen, ed., 'Memories: Molecules and Circuits', Springer-Verlag, Berlin, , pp. 125--135.

Save, E.; Poucet, B.; Foreman, N. & Buhot, M. C. (1992a), 'Object exploration and reactions to spatial and nonspatial changes in hooded rats following damage to parietal cortex or hippocampal formation.', *Behav Neurosci* **106**(3), 447--456.

- Save, E.; Buhot, M. C.; Foreman, N. & Thinus-Blanc, C. (1992b), 'Exploratory activity and response to a spatial change in rats with hippocampal or posterior parietal cortical lesions.', *Behav Brain Res* **47**(2), 113--127.
- Save, E.; Cressant, A.; Thinus-Blanc, C. & Poucet, B. (1998), 'Spatial firing of hippocampal place cells in blind rats.', *J Neurosci* **18**(5), 1818--1826.
- Save, E.; Nerad, L. & Poucet, B. (2000), 'Contribution of multiple sensory information to place field stability in hippocampal place cells.', *Hippocampus* **10**(1), 64--76.
- Schönig, K. & Bujard, H. (2003), 'Generating conditional mouse mutants via tetracycline-controlled gene expression.', *Methods Mol Biol* **209**, 69--104.
- Schuman, E. M. & Madison, D. V. (1994), 'Locally distributed synaptic potentiation in the hippocampus.', *Science* **263**(5146), 532--536.
- Schuman, E. M. & Madison, D. V. (1994), 'Communication of synaptic potentiation between synapses of the hippocampus.', *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res* **29**, 507--520.
- Schuman, E. M. & Madison, D. V. (1994), 'Nitric oxide and synaptic function.', *Annu Rev Neurosci* **17**, 153--183.
- Schwartzkroin, P. A. & Wester, K. (1975), 'Long-lasting facilitation of a synaptic potential following tetanization in the in vitro hippocampal slice.', *Brain Res* **89**(1), 107--119.
- Scott, T. R. & Bennett, M. R. (1993a), 'The effect of nitric oxide on the efficacy of synaptic transmission through the chick ciliary ganglion.', *Br J Pharmacol* **110**(2), 627--632.
- Scott, T. R. & Bennett, M. R. (1993b), 'The effect of ions and second messengers on long-term potentiation of chemical transmission in avian ciliary ganglia.', *Br J Pharmacol* **110**(1), 461--469.
- Selden, N. R.; Everitt, B. J.; Jarrard, L. E. & Robbins, T. W. (1991), 'Complementary roles for the amygdala and hippocampus in aversive conditioning to explicit and contextual cues.', *Neuroscience* **42**(2), 335--350.
- Seress, L. & Ribak, C. E. (1983), 'GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons.', *Exp Brain Res* **50**(2-3), 173--182.
- Sharp, P.E. & Green, C. (1994), 'Spatial correlates of firing patterns of single cells in the subiculum of the freely moving rat.', *J Neurosci* **14**(4), 2339--2356.
- Sharp, P. E. (1996), 'Multiple spatial/behavioral correlates for cells in the rat postsubiculum: multiple regression analysis and comparison to other hippocampal areas.', *Cereb Cortex* **6**(2), 238--259.
- Shapiro, M. L.; Tanila, H. & Eichenbaum, H. (1997), 'Cues that hippocampal place cells encode: dynamic and hierarchical representation of local and distal stimuli.', *Hippocampus* **7**(6), 624--642.
- Sharp, P.E. (1997), 'Subicular cells generate similar spatial firing patterns in two geometrically and visually distinctive environments: comparison with hippocampal place cells.', *Behav Brain Res* **85**(1), 71--92.
- Sharp, P.E. (1999a), 'Complimentary roles for hippocampal versus subicular/entorhinal place cells in coding place, context, and events.', *Hippocampus* **9**(4), 432--443.
- Sharp, P.E. (1999), 'Subicular place cells expand or contract their spatial firing pattern to fit the size of the environment in an open field but not in the presence of barriers: comparison with hippocampal place cells.', *Behav Neurosci* **113**(4), 643--662.

- Sharp, P.E.; Blair, H.T. & Cho, J. (2001), 'The anatomical and computational basis of the rat head-direction cell signal.', *Trends Neurosci* **24**(5), 289--294.
- Sharp, P.E. (2006), 'Subicular place cells generate the same "map" for different environments: comparison with hippocampal cells.', *Behav Brain Res* **174**(2), 206--214.
- Shibata, R.; Mulder, A.B.; Trullier, O. & Wiener, S.I. (2001), 'Position sensitivity in phasically discharging nucleus accumbens neurons of rats alternating between tasks requiring complementary types of spatial cues', *Neuroscience* **108**(3), 391--411.
- Siegel, J. J.; Nitz, D. & Bingman, V. P. (2005), 'Spatial-specificity of single-units in the hippocampal formation of freely moving homing pigeons.', *Hippocampus* **15**(1), 26--40.
- Silva, A. J.; Paylor, R.; Wehner, J. M. & Tonegawa, S. (1992), 'Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice.', *Science* **257**(5067), 206--211.
- Silva, A.J.; Stevens, C.F.; Tonegawa, S. & Wang, Y. (1992a), 'Deficient hippocampal long-term potentiation in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice.', *Science* **257**(5067), 201-6.
- Simpson, C. S. & Morris, B. J. (1995), 'Induction of c-fos and zif/268 gene expression in rat striatal neurons, following stimulation of D1-like dopamine receptors, involves protein kinase A and protein kinase C.', *Neuroscience* **68**(1), 97--106.
- Skaggs, W.E.; McNaughton, B.L. & Gothard, K.M. (1993), 'An Information-Theoretic Approach to Deciphering the Hippocampal Code, in Stephen Jos Hanson; Jack D. Cowan & C. Lee Giles, ed., 'Advances in Neural Information Processing Systems', Morgan Kaufmann, San Mateo, CA, , pp. 1030--1037.
- Skaggs, W.E. & McNaughton, B.L. (1998), 'Spatial firing properties of hippocampal CA1 populations in an environment containing two visually identical regions.', *J Neurosci* **18**(20), 8455--8466.
- Slawinska, U. & Kasicki, S. (1998), 'The frequency of rat's hippocampal theta rhythm is related to the speed of locomotion.', *Brain Res* **796**(1-2), 327--331.
- Soderling, T. R. & Derkach, V. A. (2000), 'Postsynaptic protein phosphorylation and LTP.', *Trends Neurosci* **23**(2), 75--80.
- Spear, N. E. The Processing of Memories: Forgetting and Retention (Erlbaum, Hillsdale, New Jersey, 1978).
- Spektor, B. S.; Miller, D. W.; Hollingsworth, Z. R.; Kaneko, Y. A.; Solano, S. M.; Johnson, J. M.; Penney, J. B.; Young, A. B. & Luthi-Carter, R. (2002), 'Differential D1 and D2 receptor-mediated effects on immediate early gene induction in a transgenic mouse model of Huntington's disease.', *Brain Res Mol Brain Res* **102**(1-2), 118--128.
- Stackman, R.W. & Taube, J.S. (1997), 'Firing properties of head direction cells in the rat anterior thalamic nucleus: dependence on vestibular input.', *J Neurosci* **17**(11), 4349--4358.
- Stackman, R.W. & Taube, J.S. (1998), 'Firing properties of rat lateral mammillary single units: head direction, head pitch, and angular head velocity.', *J Neurosci* **18**(21), 9020--9037.
- Stanton, P. K. & Sarvey, J. M. (1984), 'Blockade of long-term potentiation in rat hippocampal CA1 region by inhibitors of protein synthesis.', *J Neurosci* **4**(12), 3080--3088.
- Stein, J. F. (1989), 'Representation of egocentric space in the posterior parietal cortex.', *Q J Exp Physiol* **74**(5), 583--606.
- Surlykke, A. & Moss, C. F. (2000), 'Echolocation behavior of big brown bats, *Eptesicus fuscus*, in the field and the laboratory.', *J Acoust Soc Am* **108**(5 Pt 1), 2419--2429.

Sutherland, R.J.; Kolb, B. & Whishaw, I.Q. (1982), 'Spatial mapping: definitive disruption by hippocampal or medial frontal cortical damage in the rat.', *Neurosci Lett* **31**(3), 271--276.

Sutherland, R.J. & Rudy, J.W. (1988), 'Place learning in the Morris water maze is impaired by damage to the hippocampal formation even if the temporal demands are reduced.', *Psychobiology* **6**, 157--163.

Swanson, L.W. (1981), 'A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat', *Brain Research* **217**(1), 150--154.

Swanson, L. W., Köhler, C., and Björklund, A. (1987)., The limbic region. I. The septohippocampal system. In "Handbook of Chemical Neuroanatomy" (Björklund, A., Hökfelt, T., and Swanson, L. W., Eds.), Vol. 5, Part I., pp. 125--227. Elsevier, Publisher, Amsterdam.

Swanson, L. W. (2000), 'Cerebral hemisphere regulation of motivated behavior.', *Brain Res* **886**(1-2), 113--164.

Swirzoff, A. H. & Milbrandt, J. (1995), 'DNA-binding specificity of NGFI-A and related zinc finger transcription factors.', *Mol Cell Biol* **15**(4), 2275--2287.

T

Tan, S. E. & Liang, K. C. (1996), 'Spatial learning alters hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II activity in rats.', *Brain Res* **711**(1-2), 234--240.

Tang, Y. P.; Shimizu, E.; Dube, G. R.; Rampon, C.; Kerchner, G. A.; Zhuo, M.; Liu, G. & Tsien, J. Z. (1999), 'Genetic enhancement of learning and memory in mice.', *Nature* **401**(6748), 63--69.

Tanila, H.; Sipilä, P.; Shapiro, M. & Eichenbaum, H. (1997), 'Brain aging: impaired coding of novel environmental cues.', *J Neurosci* **17**(13), 5167--5174.

Taube, J.S.; Muller, R.U. & Ranck, J.B. (1990), 'Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis.', *J Neurosci* **10**(2), 420--435.

Taube, J.S.; Muller, R.U. & Ranck, J.B. (1990a), 'Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. II. Effects of environmental manipulations.', *J Neurosci* **10**(2), 436--447.

Taube, J.S. (1995), 'Place cells recorded in the parasubiculum of freely moving rats.', *Hippocampus* **5**(6), 569--583.

Taube, J.S. (1995a), 'Head direction cells recorded in the anterior thalamic nuclei of freely moving rats.', *J Neurosci* **15**(1 Pt 1), 70--86.

Taube, J.S. (1995), 'Place cells recorded in the parasubiculum of freely moving rats.', *Hippocampus* **5**(6), 569--583.

Taube, J.S. (2007), 'The Head Direction Signal: Origins and Sensory-Motor Integration.', *Annu Rev Neurosci* **30**, 181--207.

Thinus-Blanc, C. ; Bouzouba, L. ; Chaix, C. ; Chapuis, N. ; Durup, M. & Poucet, B. (1987), 'A study of spatial parameters encoded during exploration in hamsters.', *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* **13**, 418--427.

Thinus-Blanc, C. (1988), 'Animal spatial cognition.', In L. Weiskrantz (Ed.), "Thought without language". London, Oxford University Press, pages 371--395.

Thomas, K. L.; Hall, J. & Everitt, B. J. (2002), 'Cellular imaging with zif268 expression in the rat nucleus accumbens and frontal cortex further dissociates the neural pathways activated following the retrieval of contextual and cued fear memory.', *Eur J Neurosci* **16**(9), 1789--1796.

Thompson, L. T. & Best, P. J. (1989), 'Place cells and silent cells in the hippocampus of freely-behaving rats.', *J Neurosci* **9**(7), 2382--2390.

Thompson, L.T. & Best, P.J. (1990), 'Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats.', *Brain Res* **509**(2), 299--308.

Tokuyama, W.; Okuno, H.; Hashimoto, T.; Li, Y. X. & Miyashita, Y. (2002), 'Selective zif268 mRNA induction in the perirhinal cortex of macaque monkeys during formation of visual pair-association memory.', *J Neurochem* **81**(1), 60--70.

Tolman, E.C. & Honzik, C.H. (1930), "'Insight" in rats.', *University of California Publications in Psychology* **4**, 215--232.

Tolman, E.C. (1946), 'Cognitive maps in rats and men.', *Psychol Rev* **55**, 189--208.

Topilko, P.; Schneider-Maunoury, S.; Levi, G.; Trembleau, A.; Gourdji, D.; Driancourt, M. A.; Rao, C. V. & Charnay, P. (1998), 'Multiple pituitary and ovarian defects in Krox-24 (NGFI-A, Egr-1)-targeted mice.', *Mol Endocrinol* **12**(1), 107--122.

Trepel, C. & Racine, R. J. (1998), 'Long-term potentiation in the neocortex of the adult, freely moving rat.', *Cereb Cortex* **8**(8), 719--729.

Treves, A. & Rolls, E. T. (1992), 'Computational constraints suggest the need for two distinct input systems to the hippocampal CA3 network.', *Hippocampus* **2**(2), 189--199.

Tsien, J. Z.; Huerta, P. T. & Tonegawa, S. (1996), 'The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory.', *Cell* **87**(7), 1327--1338.

Tsodyks, M. (1999), 'Attractor neural network models of spatial maps in hippocampus.', *Hippocampus* **9**(4), 481--489.

U

Ulanovsky, N. & Moss, C. F. (2007), 'Hippocampal cellular and network activity in freely moving echolocating bats.', *Nat Neurosci* **10**(2), 224--233.

V

Vazdarjanova, A.; McNaughton, B. L.; Barnes, C. A.; Worley, P. F. & Guzowski, J. F. (2002), 'Experience-dependent coincident expression of the effector immediate-early genes arc and Homer 1a in hippocampal and neocortical neuronal networks.', *J Neurosci* **22**(23), 10067--10071.

Vazdarjanova, A. & Guzowski, J. F. (2004), 'Differences in hippocampal neuronal population responses to modifications of an environmental context: evidence for distinct, yet complementary, functions of CA3 and CA1 ensembles.', *J Neurosci* **24**(29), 6489--6496.

Vinogradova, O. S. (2001), 'Hippocampus as comparator: role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information.', *Hippocampus* **11**(5), 578--598.

W

- Walker, P. & Davies, S. J. (2003), 'Perceptual completion and object-based representations in short-term visual memory.', *Mem Cognit* **31**(5), 746--760.
- Walker, M. P.; Brakefield, T.; Hobson, J. A. & Stickgold, R. (2003a), 'Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation.', *Nature* **425**(6958), 616--620.
- Watson, M. A. & Milbrandt, J. (1990), 'Expression of the nerve growth factor-regulated NGFI-A and NGFI-B genes in the developing rat.', *Development* **110**(1), 173--183.
- Wei, F.; Xu, Z. C.; Qu, Z.; Milbrandt, J. & Zhuo, M. (2000), 'Role of EGR1 in hippocampal synaptic enhancement induced by tetanic stimulation and amputation.', *J Cell Biol* **149**(7), 1325--1334.
- Westbrook, G. L. & Mayer, M. L. (1984), 'Glutamate currents in mammalian spinal neurons: resolution of a paradox.', *Brain Res* **301**(2), 375--379.
- Whishaw, I. Q. (1995), 'A comparison of rats and mice in a swimming pool place task and matching to place task: some surprising differences.', *Physiol Behav* **58**(4), 687--693.
- Williams, J.; Dragunow, M.; Lawlor, P.; Mason, S.; Abraham, W.C.; Leah, J.; Bravo, R.; Demmer, J. & Tate, W. (1995), 'Krox20 may play a key role in the stabilization of long-term potentiation.', *Brain Res Mol Brain Res* **28**(1), 87--93.
- Wilson, M.A. & McNaughton, B.L. (1993), 'Dynamics of the hippocampal ensemble code for space.', *Science* **261**(5124), 1055--1058.
- Wilson, M. A. & McNaughton, B. L. (1994), 'Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep.', *Science* **265**(5172), 676--679.
- Wilson, M. A. & Tonegawa, S. (1997), 'Synaptic plasticity, place cells and spatial memory: study with second generation knockouts.', *Trends Neurosci* **20**(3), 102--106.
- Wilson, I. A.; Ikonen, S.; Gureviciene, I.; McMahan, R. W.; Gallagher, M.; Eichenbaum, H. & Tanila, H. (2004), 'Cognitive aging and the hippocampus: how old rats represent new environments.', *J Neurosci* **24**(15), 3870--3878.
- Wilson, I. A.; Ikonen, S.; Gurevicius, K.; McMahan, R. W.; Gallagher, M.; Eichenbaum, H. & Tanila, H. (2005), 'Place cells of aged rats in two visually identical compartments.', *Neurobiol Aging* **26**(7), 1099--1106.
- Wiener, S.I.; Paul, C.A. & Eichenbaum, H. (1989), 'Spatial and behavioral correlates of hippocampal neuronal activity.', *J Neurosci* **9**(8), 2737-63.
- Wiener, S.I. (1993), 'Spatial and behavioral correlates of striatal neurons in rats performing a self-initiated navigation task.', *J Neurosci* **13**(9), 3802--3817.
- Wiener, S.I.; Korshunov, V.A.; Garcia, R. & Berthoz, A. (1995), 'Inertial, substratal and landmark cue control of hippocampal CA1 place cell activity.', *Eur J Neurosci* **7**(11), 2206--2219.
- Wills, T.J.; Lever, C.; Cacucci, F.; Burgess, N. & O'Keefe, J. (2005), 'Attractor dynamics in the hippocampal representation of the local environment.', *Science* **308**(5723), 873--876.
- Wilson, M.A. & McNaughton, B.L. (1993), 'Dynamics of the hippocampal ensemble code for space.', *Science* **261**(5124), 1055--1058.
- Winson, J. (1972), 'Interspecies differences in the occurrence of theta.', *Behav Biol* **7**(4), 479--487.

Wisden, W.; Errington, M. L.; Williams, S.; Dunnett, S. B.; Waters, C.; Hitchcock, D.; Evan, G.; Bliss, T. V. & Hunt, S. P. (1990), 'Differential expression of immediate early genes in the hippocampus and spinal cord.', *Neuron* **4**(4), 603--614.

Witter, M. P.; Ostendorf, R. H. & Groenewegen, H. J. (1990), 'Heterogeneity in the Dorsal Subiculum of the Rat. Distinct Neuronal Zones Project to Different Cortical and Subcortical Targets.', *Eur J Neurosci* **2**(8), 718--725.

Witter, M. P.; Wouterlood, F. G.; Naber, P. A. & Haeften, T. V. (2000), 'Anatomical organization of the parahippocampal-hippocampal network.', *Ann N Y Acad Sci* **911**, 1--24.

Witter M.P. & Amaral D.G. (2004), 'Hippocampal formation' in: G.T. Paxinos (ed) *The Rat Nervous System. Academic Press*, San Diego, CA, third edition, pages 635--704.

Whitlock, J.R.; Heynen, A.J.; Shuler, M.G. & Bear, M.F. (2006), 'Learning induces long-term potentiation in the hippocampus.', *Science* **313**(5790), 1093--1097.

Worley, P. F.; Christy, B. A.; Nakabeppu, Y.; Bhat, R. V.; Cole, A. J. & Baraban, J. M. (1991), 'Constitutive expression of zif268 in neocortex is regulated by synaptic activity.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**(12), 5106--5110.

Worley, P. F.; Bhat, R. V.; Baraban, J. M.; Erickson, C. A.; McNaughton, B. L. & Barnes, C. A. (1993), 'Thresholds for synaptic activation of transcription factors in hippocampus: correlation with long-term enhancement.', *J Neurosci* **13**(11), 4776--4786.

Wood, E.R.; Dudchenko, P.A. & Eichenbaum, H. (1999), 'The global record of memory in hippocampal neuronal activity.', *Nature* **397**(6720), 613--616.

Wood, E.R.; Dudchenko, P.A.; Robitsek, R.J. & Eichenbaum, H. (2000), 'Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location', *Neuron* **27**(3), 623--633.

Y

Yamamoto, C. & Chujo, T. (1978), 'Long-term potentiation in thin hippocampal sections studied by intracellular and extracellular recordings.', *Exp Neurol* **58**(2), 242--250.

Yan, J.; Zhang, Y.; Jia, Z.; Taverna, F. A.; McDonald, R. J.; Muller, R. U. & Roder, J. C. (2002), 'Place-cell impairment in glutamate receptor 2 mutant mice.', *J Neurosci* **22**(3), RC204.

Yang, X. D. & Faber, D. S. (1991), 'Initial synaptic efficacy influences induction and expression of long-term changes in transmission.', *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**(10), 4299--4303.

Yau, J. L.; Olsson, T.; Morris, R. G.; Noble, J. & Seckl, J. R. (1996), 'Decreased NGFI-A gene expression in the hippocampus of cognitively impaired aged rats.', *Brain Res Mol Brain Res* **42**(2), 354--357.

Z

Zalutsky, R. A. & Nicoll, R. A. (1990), 'Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons.', *Science* **248**(4963), 1619--1624.

Zamanillo, D.; Sprengel, R.; Hvalby, O.; Jensen, V.; Burnashev, N.; Rozov, A.; Kaiser, K. M.; Köster, H. J.; Borchardt, T.; Worley, P.; Lübke, J.; Frotscher, M.; Kelly, P. H.; Sommer, B.; Andersen, P.; Seeburg, P. H. & Sakmann, B. (1999), 'Importance of AMPA receptors for hippocampal synaptic plasticity but not for spatial learning.', *Science* **284**(5421), 1805--1811.

Zeeuw, C. I. D.; Hansel, C.; Bian, F.; Koekkoek, S. K.; Van Alphen, A. M.; Linden, D. J. & Oberdick, J. (1998), 'Expression of a protein kinase C inhibitor in Purkinje cells blocks cerebellar LTD and adaptation of the vestibulo-ocular reflex.', *Neuron* **20**(3), 495--508.

Zilles, K. (1985), *The cortex of the rat. A stereotaxic atlas.*, Berlin, Springer-Verlag.

Zugaro, M.B.; Berthoz, A. & Wiener, S.I. (2001), 'Background, but not foreground, spatial cues are taken as references for head direction responses by rat anterodorsal thalamus neurons.', *J Neurosci* **21**(14), RC154.

Articles n°1

Flexible Use of Proximal Objects and Distal Cues by Hippocampal Place Cells

Sophie Renaudineau, Bruno Poucet, and Etienne Save*

ABSTRACT: The purpose of the present experiment was to examine how distal cues and proximal objects interact to control firing fields. In a previous study, Shapiro et al. (1997) *Hippocampus* 7:624–642, suggested that hippocampal place cell firing is controlled by distal cues and proximal floor inserts in a flexible and hierarchical fashion. Control exerted by the combined set of cues prevailed over control by distal cues, which itself prevailed over control by proximal cues. Here, we examined the generality of this hierarchy in the use of cues. Place cells were recorded as rats performed a pellet chasing task on a platform containing three proximal objects, surrounded by a curtain where three visual stimuli were hung. A double rotation of distal and proximal cue sets producing a 180° mismatch revealed noncoherent responses of place cells. Most fields were controlled by the configuration of proximal and distal cues (i.e., remapped). Less often, fields were controlled by specific cues with a majority being controlled by proximal cues, thus suggesting that response hierarchy is modulated by the environment. We finally examined the effect of removing one set of cues after the double rotation session. Half of the fields were controlled by the remaining cues while the other half remapped, thus suggesting a competition between pattern completion and pattern separation processes. Furthermore, cells that were controlled by the remaining cues were mainly those that had remapped in the double rotation session. Our results are compatible with the idea that the flexibility of the place cell system results from an interaction between the sensory properties of individual cell and the attractor networks properties of the whole place cell population. © 2007 Wiley-Liss, Inc.

KEY WORDS: hippocampus; place cells; spatial mapping; unit recording; rat

INTRODUCTION

Place cells are hippocampal pyramidal cells that discharge intensely only when a rat's head is within a stable, cell-specific region called the "firing field" (O'Keefe and Dostrovsky, 1971). At the scale of the whole environment, activation of an ensemble of place cells yields a spatial pattern of overlapping firing fields that covers the entire surface of the apparatus (Wilson and McNaughton, 1993). The spatial pattern is specific to a given environment since changing features, such as wall color (Bostock et al., 1991), shape (Muller and Kubie, 1987; Kentros et al., 1998; Lever et al.,

2002), or apparatus orientation (Cressant et al., 2002) induces a reorganization of this pattern called "remapping" (Muller and Kubie, 1987). In remapping, firing fields of neurons that fire in the familiar environment may be modified so that their firing rate, location, size, or shape are different in the new environment, reflecting activation of a new representation (e.g., Muller and Kubie, 1987; Paz-Villagrán et al., 2004; Leutgeb et al., 2005b). Thus, the hippocampal place cell system is thought to provide the animal with an internal representation of both its current location and the characteristics of the environment.

Previous work has shown that both environmental and movement-related cues control firing fields (Sharp et al., 1995; Bures et al., 1997; Knierim et al., 1998). Among environmental cues, distal and proximal cues separately influence place cell firing (Gothard et al., 1996). Thus, rotation of a cue-card attached to the wall of the recording cylinder in which the animal forages for food induces equivalent rotation of firing fields (Muller and Kubie, 1987). Similarly, individual objects as well as ensembles of objects placed directly into the recording apparatus may also be shown to anchor firing fields under some circumstances (Gothard et al., 1996; Save et al., 1998; Cressant et al., 1997, 1999; Save et al., 2005). Finally, behavioral experiments suggest that accurate spatial navigation relies on the coordinated use of both distal cues and proximal objects (Save and Poucet, 2000; Parron et al., 2004). How such stimuli combine to control place cell activity is still largely unknown.

In line with the above considerations, the purpose of the present experiment was to examine how distal cues and proximal objects interact to control firing fields. To do so, we used the double rotation method that consists of rotating separate sets of cues in opposite directions (Shapiro et al., 1997). Such a double rotation results in a conflict between the two sets of cues which makes it possible to measure their respective influence by classifying the responses of individual place cells. In previous work using double rotation (Shapiro et al., 1997; Tanila et al., 1997; Knierim, 2002), distal cues were large visual stimuli on the walls of the recording chamber while proximal cues were multi-sensory inserts put on the arms of the maze run by the rat. Although the double rotation of these two sets of cues yielded complex results, its most common effect was to cause a remapping, indicative of the predominant encoding of the cue configuration.

Laboratory of Neurobiology and Cognition, CNRS and Aix-Marseille Université, Marseille, France

Grant sponsors: CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique), Ministère de la Recherche (ACI Neurosciences Intégratives et Computationnelles).

*Correspondence to: Dr. Etienne Save, Laboratory of Neurobiology and Cognition, UMR 6155 CNRS-Université Aix-Marseille I, Pôle 3C, 3 place Victor Hugo, 13331 Marseille Cedex 3, France.

E-mail: esave@up.univ-mrs.fr

Accepted for publication 30 January 2007

DOI 10.1002/hipo.20277

Published online 19 March 2007 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

Interestingly, Shapiro et al. (1997) observed that cells that did not remap were mostly controlled by distal cues, suggesting hierarchical encoding of cues by place cells. The properties of such hierarchical organization are still unclear. However, one possibility is that it reflects some built-in invariant properties of the system based on the intrinsic importance of cues. For example, since distal cues provide critical information for navigation, they may be predominantly used by the system. Another possibility is that it is modulated by the environment and task parameters.

In the present study, we sought to assess these possibilities by introducing several major changes relative to previous experiments. Thus, place cells were recorded from rats that had to forage for food in a circular open arena that contained objects as proximal cues rather than floor visual inserts. The arena was surrounded by curtains to which salient visual stimuli were attached to serve as distal cues. Using a double rotation procedure, we first examined which cues were predominantly used in controlling firing fields. Because our proximal object cues constituted potential obstacles that impacted the rat's movements in space, we hypothesized that they might prevail over distal cues, thus yielding a hierarchical organization departing from that observed by Shapiro et al. (1997).

Once the cues controlling the firing fields were established by the double rotation procedure, we moved one step further by determining the effects of cue removal. Specifically, we asked whether firing fields can flexibly shift to the remaining cue set when the controlling cues are no longer available. Previous studies (O'Keefe and Conway, 1978; Quirk et al., 1990; Nakazawa et al., 2002) have suggested that place cells show preserved spatial firing despite degradation of the sensory input (i.e., following partial cue removal). In our study, such "pattern completion" would be observed if cells that remap following the double rotation (i.e., that are under control of the cue configuration) can nevertheless recover their initial field once the conflict is removed.

METHODS AND MATERIALS

Subjects

Seven naive Long-Evans male rats, purchased from a commercial supplier (Janvier, Le Genest-St-Isles, France), were housed in individual cages (40 cm long \times 26 cm wide \times 16 cm high) with ad libitum food and water, and kept in a temperature-controlled room ($20^{\circ} \pm 2^{\circ}$) with natural light/dark cycle. Prior to electrode implantation, the animals were submitted to a progressive food deprivation schedule until they reached 85% of their initial body weight. They were then trained to forage for 20 mg-food pellets in a small arena (pellet-chasing task).

Electrode Implantation

Electrodes were 25 μ m Formvar-insulated nichrome wires. A bundle of 10 of these wires was inserted into a 30 G stainless

steel guide-cannula secured to the central pin of a circular connector (Kubie, 1984). Each wire was connected to a different peripheral pin on the connector. Three drive screws with nylon cuffs were attached to the connector by acrylic. When implanted, turning the screws allowed the electrodes and the cannula to be moved down in the brain.

Rats were deeply anesthetized by injection of sodium pentobarbital (40 mg/kg i.p., Sanofi Santé Animal, Libourne, France) preceded by atropine sulfate (0.25 mg/kg, i.p.). Additional injections of ketamine (50 mg/kg i.p., Imalgène, Merial, France) were occasionally made to maintain appropriate anesthesia throughout surgery. The rats were placed in a Kopf stereotaxic apparatus (Kopf instruments, Tujunga, CA). A midline incision of the scalp was made and the skin and muscles were carefully retracted to expose the skull.

Miniature screws were placed over the right olfactory bulb, the left frontal cortex, and the left cerebellar hemisphere to anchor the headstage. A hole was drilled in the skull and the electrodes were lowered into the brain at the following coordinates relative to bregma: AP: -3.8 mm, L: -3.0 , DV: -1.5 mm (Paxinos and Watson, 1986). The bottom (nylon cuffs) of the 3 drive screws assembly was then cemented to the skull. The rats were sutured and received injections of an antibiotic (Terramycine, 60 mg/kg, i.m., Pfizer, Paris, France) and an analgesic (Tolfedine, 0.06 mg/kg, s.c., Vetoquinol, Lure, France). The animals were allowed to recover for 10 days before cell screening started. The treatments were performed in accordance with the NIH guide for the care and use of laboratory animals (NIH publication no. 86-23, revised 1987), European guidelines (European Community Council Directive, November 24, 1986, 86/609/EEC), and National guidelines (permission no. 13.24 from the Ministère de l'Agriculture et de la Pêche to E.S.).

At the completion of the experiment, rats received a lethal dose of sodium pentobarbital. Just before death, positive current (15 μ A for 30 s) was passed through one of the micro-wires to deposit iron that could be visualized after reaction with potassium ferrocyanide (Prussian blue). Rats were transcardially perfused with a 10% formalin solution and the brains were removed and stored for 1 day in a 4% formalin solution with 3% ferrocyanide. They were then stored in a 4% formalin solution. Later, 40 μ m thick coronal sections were made. Every fifth section was mounted and stained with cresyl violet. The slides were observed under the microscope to determine electrode placements.

Apparatus

The apparatus was a circular elevated platform (90 cm high, 76 cm in diameter) visually isolated from the rest of the room by a cylindrical beige curtain (250 cm in diameter and height, 62.5 cm from the platform edge) with 3 possible entrances. It was painted gray and could be easily cleaned. The apparatus was lit by indirect light provided by four 25 W-bulbs placed on the ceiling in symmetrical positions. During all phases of the study, a radio tuned to an FM station was fixed to the ceiling in a central position relative to the cylinder, producing

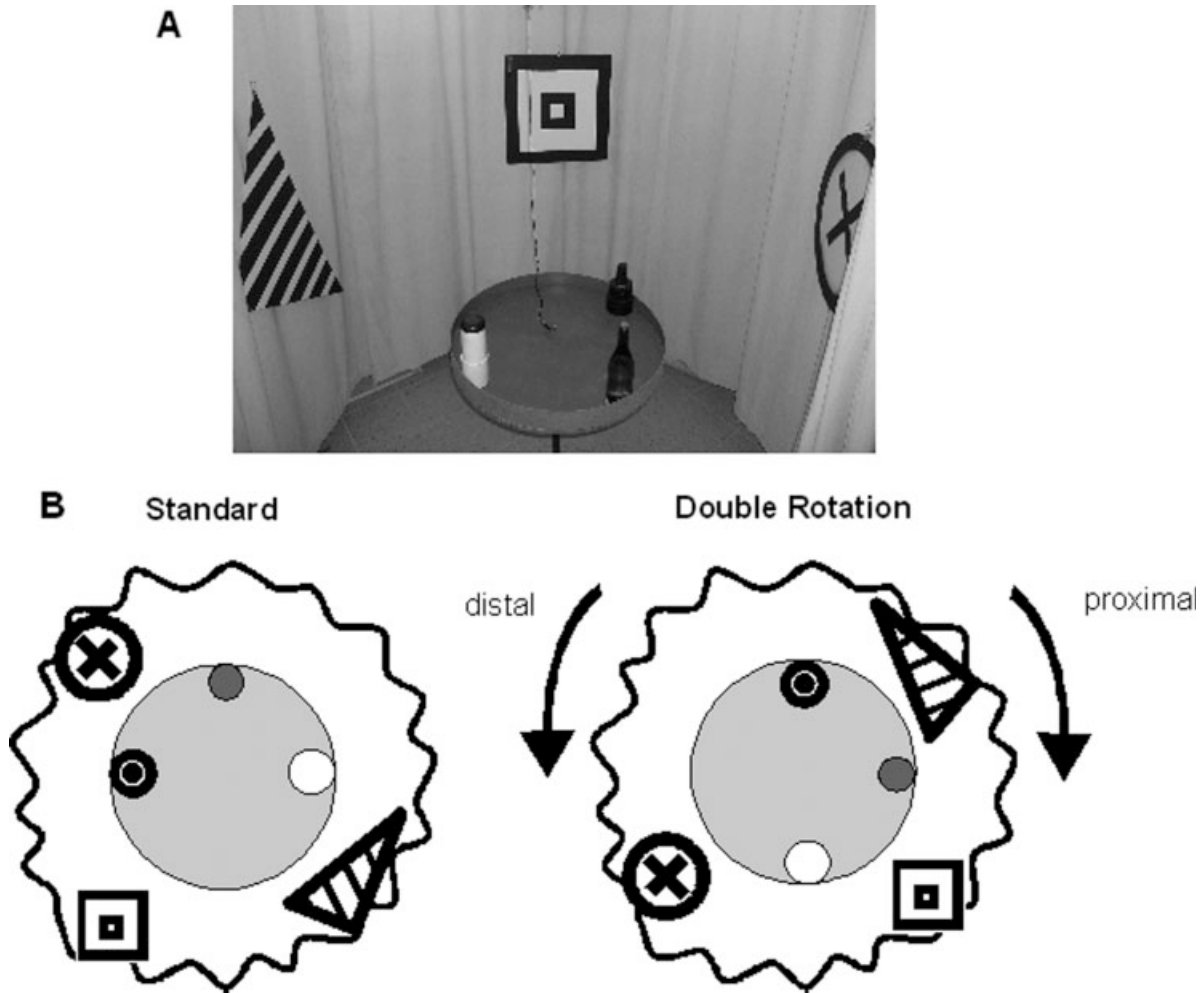


FIGURE 1. A: Photograph of the apparatus. Place cells are recorded while the rat performs pellet chasing on a circular gray platform containing three different objects. The apparatus is surrounded by a curtain to which three distinct 2D visual patterns

(termed distal cues) are attached. B: Following two successive standard sessions (left), a double rotation is performed (right). Proximal objects are rotated 90° CW and distal cues 90° CCW, thereby generating a conflict between the two kinds of cues.

background noise > 70 dB to mask noncontrolled directional sounds. When activated, a food dispenser above the platform dropped 20-mg pellets at random locations on the apparatus floor. A camera was fixed to the ceiling.

Proximal cues were three objects differing in color, size, shape, and texture, placed directly on the platform. There was a glass bottle (29 cm high), a white plastic cylinder (21 cm high, 8 cm in diameter), and a black wooden cone (20 cm high) (Save et al., 1998; Paz-Villagr n et al., 2002). They were placed at the periphery of the platform and formed an isosceles triangle configuration (Fig. 1). Attached to the curtain, distal cues were three 2-dimensional patterned pieces of cardboard. Their size was calculated so as to match the visual angle subtended by the proximal cues when the animal was at the center of the platform. There was an isosceles triangle (70 × 70 × 98 cm) with white/black stripes (4 cm and 7 cm large, respectively), a white square (50 cm a side) with two concentric black stripes (7 cm large), and a white circle (54 cm in diameter) with a concentric peripheral black stripe and a central black

cross (32 cm long) (Fig. 1A). The relative configuration of the proximal and distal cues is displayed in Figure 1A.

The computer and the recording equipment were located in a room adjacent to the room containing the cylinder.

Recording Methods

Starting from 10 days after surgery, the activity from each electrode was screened daily while the rats performed the pellet-chasing task on the platform with the two sets of stimuli in their standard configuration (i.e., rats were not exposed to double rotation and cue removal before cell recordings). The electrodes were lowered (by 25–50 µm steps) over a period of several weeks while searching for unit waveforms of sufficient amplitude (>100 µV, i.e., ~3 times the background noise). For screening and recording, the animal was connected to a headstage comprising unity gain preamplifiers and a light emitting diode (LED) for tracking the rat's head position. Signals

were amplified 10,000 times, band-pass filtered between 0.3 and 10 kHz, and sent to a 250 kHz analog-to-digital (A/D) board in a PC computer. Using a DataWave acquisition system (DataWave, Longmont, CO), waveforms of identified units were sampled at 32 kHz (1 μ s burst of 32 samples each time the voltage exceeded an experimenter-defined threshold) and stored. Before the initial recording session, spike discharges of single units were separated using on-line clustering software (DataWave Discovery) to simplify later off-line separation. The rat's head position in the apparatus was obtained by locating a light-emitting diode (LED) that was secured \sim 1 cm above the head. The LED was tracked at 50 Hz with a digital spot follower that received RGB signals from a CCD color camera fixed above the apparatus. The LED was detected in a grid of 64×64 square regions (pixels), 25 mm on a side.

Experimental Protocol

Once recordable cells were found, rats were subjected to the following sequence of four successive 16-min sessions (Fig. 1B): (1) standard session 1 (STD 1), (2) standard session 2 (STD 2), (3) double rotation session (DR), and (4) standard session 3 (STD 3). Standard sessions were performed with proximal and distal cues positioned as during screening. STD 1 allowed initial identification of firing field location, STD 2 was aimed at checking for firing field constancy in stable conditions, and STD 3 was conducted to check for cell recording stability across sessions. In the DR session, the set of proximal cues was rotated 90° clockwise (CW) and the set of distal cues was rotated 90° counterclockwise (CCW), thus resulting in a 180° mismatch. The double rotation procedure allowed us to establish which set of cues were controlling the firing fields. To measure the flexibility of such control, a cue removal (CR) session in which either distal or proximal cues were removed was conducted following the DR session. Cue removal, which was done only occasionally to minimize learning of this manipulation, allowed us to ask two questions. First, do place cells controlled by one set of cues flexibly shift to the remaining cues when the controlling set is no longer available? In that case, field location should be predicted on the basis of the remaining cues (note that a control manipulation involving removal of the noncontrolling cues was also performed on some cells). Second, cue removal was also done for some cells seen to remap following the double rotation (in those instances, the set of cues that was removed was pseudorandomly determined) to determine if these cells could recover their initial field once the conflict was removed as a result of cue removal.

Between sessions, the rat was disconnected, removed from the platform, and placed back in its home cage. In addition, the floor was cleaned with a wet sponge to neutralize olfactory cues.

Data Analysis

Unit analysis: Most cells kept for further analyses had clear location-specific activity during the initial standard sessions. Some cells however had a clear firing field only in DR. Because

these cells did not fire many spikes during standard sessions, they were called silent cells. The first step in off-line analysis was to refine boundaries for waveform clusters that were set before recording. Using DataWave Discovery software, scatter plots of the most characteristic waveform parameters (e.g., peak voltage and waveform duration) were generated from the signals emanating from putative units recorded on each channel. Discrimination of candidate waveforms was based on at most eight possible parameters including minimum and maximum spike voltages, spike duration, spike amplitude (from peak to trough), time of occurrence of minimum and maximum spike voltages, and A/D values at two selected points of the waveform were used. The cluster boundaries established for the first session were used for subsequent sessions. Only cells with similar spatial discharge properties during initial and final standard sessions were kept for the analysis so as to ensure that the same cell or set of cells was studied across the whole sequence of environmental manipulations. Five cells were not included in the data set because they did not display similar firing fields in STD 3 and STD 1.

Once single units were well separated, the positional firing rate distributions were calculated. The total time the light was detected (dwell time) and the total number of spikes in each pixel were accumulated for the session duration (16 min). Dividing the total number of spikes by the dwell time in each pixel allowed the construction of a firing rate map for the session to visualize the positional firing distribution (Muller and Kubie, 1987). In such maps, pixels that were not visited by the rat are displayed as white and pixels that were visited, but in which no spike occurred during the session, are displayed as yellow. The highest firing rate is coded as purple and intermediate rates are coded as blue, green, red, and orange pixels from high to low. The values used as boundaries between categories were determined for the first (standard) session and applied to subsequent sessions of a recording sequence to allow for comparison between these sessions for a given cell.

A firing field was defined as a set of at least nine contiguous pixels with a firing rate above the mean firing rate (i.e., above the total number of spikes divided by the session duration). In addition to the qualitative description of place cell firing provided by examination of the maps, several numerical measures were used to describe the positional firing patterns. (1) In-field mean firing rate was the total number of spikes emitted by the cell while the rat was in the firing field divided by the total time spent in the field, (2) In-field peak firing rate, (3) Spatial coherence was a computed autocorrelation between the rate for each pixel and the average rate of the eight neighboring pixels. It measures the local smoothness of firing rate contours and is a way to quantify the strength of spatial firing for a cell (Muller and Kubie, 1989), and (4) Information content measured the amount of information (in bits) conveyed about spatial location by a single action potential emitted by a single cell (Markus et al., 1994). This was calculated according to the formula: $I = \sum_i (\lambda_i / \lambda) \times \log_2 (\lambda_i / \lambda) \times P_i$ where λ_i is the mean firing rate in each pixel, λ is the overall mean firing rate, and P_i is the probability of the animal to be in pixel i (i.e., dwelling

time in pixel/total dwelling time). The minimal value of positional information content is 0 for a cell which does not provide any information about location.

To estimate numerically the shift of firing fields resulting from cue manipulations, spatial correlations were made between pairs of firing rate arrays (STD 1 vs. STD 2, DR vs. STD 2, and CR vs. DR). Pixel-by-pixel cross-correlations were calculated as the positional firing pattern for the second session (e.g., DR) was rotated in 6° steps relative to the positional firing pattern for the first session (STD 2). The angle associated with the highest correlation (R_{Max}) was taken as the rotation angle of the firing field between the two sessions. To normalize the distribution, R_{Max} values were transformed into Z_{Max} scores. These Z_{Max} scores were used for calculation of means, standard errors, and for statistical analysis. Z_{Max} corresponding to a $90 \pm 22.5^\circ$ (CW) rotation indicated that the firing field was controlled by proximal cues. Z_{Max} corresponding to a $-90 \pm 22.5^\circ$ (CCW) rotation indicated that the firing field was controlled by distal cues.

For CR sessions, we asked whether place cells anchored their fields relative to the remaining set of cues. First, we calculated the correlation between the firing rate maps for the CR and DR sessions to estimate the similarity between the two maps (see Paz-Villagr n et al., 2002). High correlation scores indicate that the fields remained stable relative to the DR session whereas low correlation scores indicate that the fields had moved to another position or disappeared (remapping). For those cells that still had a firing field in CR, we then calculated the angular correlations between CR and STD 2 to find the highest correlation, R_{Max} . Field locations predicted by distal cues and proximal cues yielded R_{Max} for $+90^\circ$ and -90° , respectively. In contrast, obtaining R_{Max} for an angle departing from $+90^\circ$ or -90° ($\pm 22.5^\circ$) indicated that the cell had remapped.

RESULTS

Proximal Object vs. Distal Cue Control

The results are based on the analysis of 129 place cells recorded during 65 complete sequences in seven rats (Rat 1: 53 cells, Rat 2: 31 cells, Rat 3: 6 cells, Rat 4: 22 cells, Rat 5: 8 cells, Rat 6: 4 cells, Rat 7: 5 cells). Recording sites were evaluated by measuring electrode positions relative to the surface of the brain. The number of cells recorded in the CA1 and CA3 hippocampal layers were 94 (73%) and 35 (27%), respectively. Comparison of the firing properties in CA1 and CA3 cells did not reveal any significant difference (mean rate: CA1: 0.79 Hz, CA3: 0.56 Hz, $t(127) = 1.57$, $P > 0.05$; Information content: CA1: 1.43, CA3: 1.57, $t(127) = -0.98$, $P > 0.05$; coherence: CA1: 0.67, CA3: 0.67, $t(127) = -0.14$, $P > 0.05$). In addition, CA1 and CA3 cells displayed similar responses to DR (see below). Therefore, the two populations were pooled into a single group of place cells to analyze the full distribution of rotation angles in response to DR and CR.

In the DR session, the set of proximal cues was rotated 90° CW and the set of distal cues was rotated 90° CCW. Not all cells maintained a field following the double rotation. Twenty-six cells (20%) stopped firing. In addition, seven cells (6%) that were silent during STD 2 gained a field during DR session. Analysis of the rotation angles of firing fields was performed for remaining cells that had a field in both STD 2 and DR sessions ($n = 96$). Figure 2A displays the distribution of the rotation angles in unchanged conditions (between STD 1 and STD 2) and after the double rotation (between STD 2 and DR). The first distribution shows that, in unchanged conditions, the rotation angles were strongly clustered around 0° thus indicating that place cells had stable firing fields. A V test for circular data confirmed the clustering around zero degree angle, $u = 13.77$; $P < 0.001$ (Batschelet, 1981).

Figure 2B reveals a trimodal distribution of the rotation angles in the DR session. A subset of firing fields rotated with the proximal objects, a subset rotated with the distal cues and a subset remained stable. The distribution was significantly different from random as confirmed by a Watson U^2 test ($n = 96$; $U^2 = 0.496$; $P < 0.01$). Note that a number of cells were not controlled by either proximal objects or distal cues. Because the rotation angles were distributed along a continuum, it was difficult to set an objective criterion to discriminate fields bound or unbound to a specific cue set. Thus, complementing this analysis, visual inspection of the rate maps was used to classify each cell into one of the following four main categories: (1) Controlled by proximal objects, (2) Controlled by distal cues, (3) Controlled by background cues (fields remained stable relative to the room), and (4) Remapping.

Table 1 displays the distribution of the cells in the 4 categories. A cell was considered to remap if it met at least one of the following four conditions: (1) The cell stopped firing after previously being active, (2) the cell became active after being previously inactive, (3) the field moved to a location not predicted by either static background cues (low correlation at 0°), distal cues (low correlation at $+90^\circ$) or proximal objects (low correlation at -90°), and (4) visual inspection of the rate maps indicated a drastic modification of the field (rate, size). Thus, the remapping category included 38 cells whose field moved to an unpredictable location, 26 cells that ceased firing and 7 initially silent cells that gained a field during the DR session.

Remapping to an unpredictable location was characterized by a lower R_{Max} than in the other categories (Remapping vs. Proximal: $t(67) = -4.39$; $P < 0.001$; Remapping vs. Distal: $t(44) = 2.82$; $P < 0.01$; Remapping vs. Background: $t(49) = 4.38$; $P < 0.001$). In particular, correlations corresponding to -90° (distal), $+90^\circ$ (proximal) and 0° (background) were extremely low (-0.01 ± 0.01 , 0.01 ± 0.01 , and 0.0 ± 0.02 , respectively). Figure 3 shows the distribution of the rotation angles for the fields that were considered to remap according to the above-mentioned criteria. The Watson U^2 test confirmed that the angles were uniformly distributed over the arena ($n = 38$; $U^2 = 0.124$; $P > 0.05$).

Figure 4 displays examples of sequences of sessions in the four categories. The remapping category is further illustrated

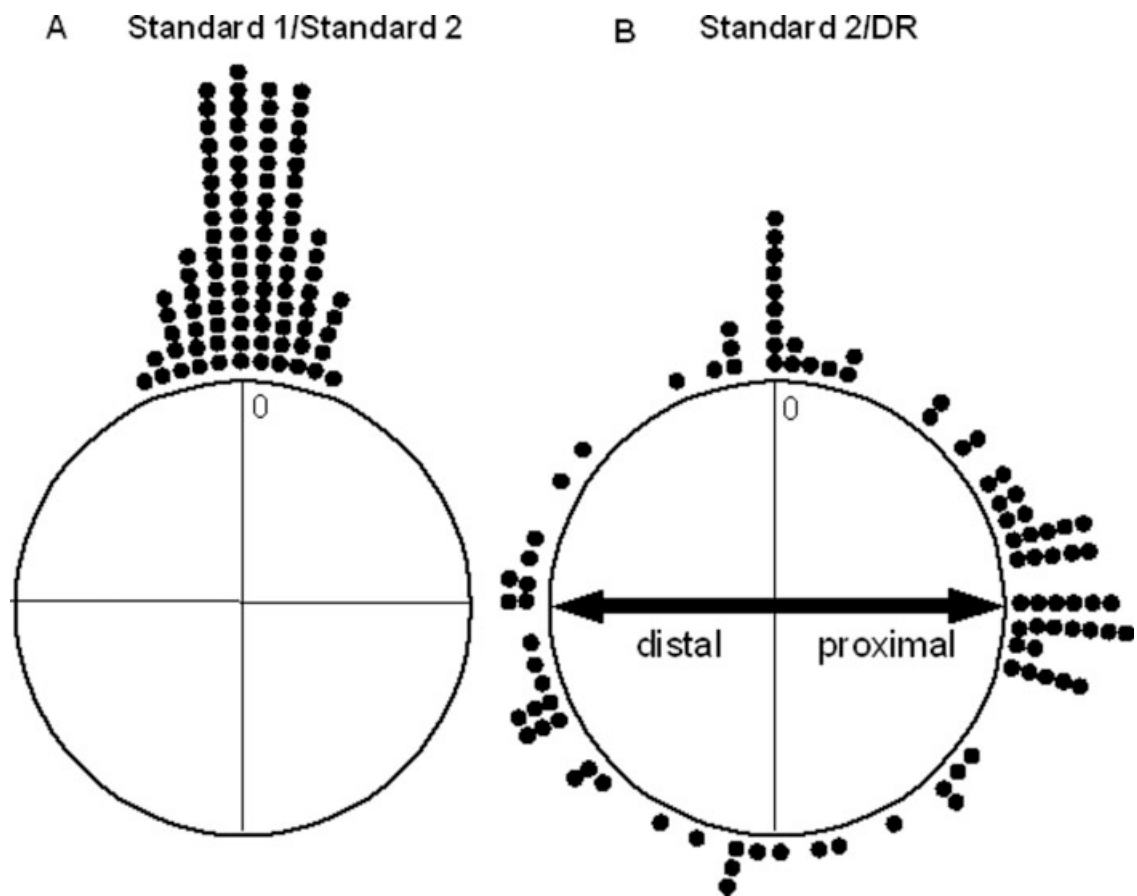


FIGURE 2. Circular distribution in 5° bins of the rotation angles corresponding to R_{Max} . Each dot represents the amount of rotation of a firing field between the two standard sessions (A) and between the STD 2 and DR sessions (B). Arrows indicate the angle corresponding to the rotation of the proximal objects and distal cues. Circular statistical analyses revealed that (1) in unchanged

conditions, the rotation angles were strongly clustered around the 0°, indicating that place cells displayed stable firing fields, and (2) in the DR session, the distribution of the rotation angles differed from randomness. A subset of firing fields rotated with the proximal objects, a subset with the distal cues and a subset remained stable.

with cells whose field moved to an unpredictable location, cells that ceased firing and cells that gained a field during the DR session.

We also assessed the effects of DR on the firing characteristics (mean rate, information content, coherence, field size, field mean firing rate, in-field peak firing rate) of place cells in each

of the four categories (for the remapping category, only the cells that maintained a field in DR were analyzed).

As shown in Table 2, we found that DR affected some firing characteristics in the proximal and distal categories only. There were no significant differences in the remapping and background categories (All P s > 0.05). The main effect of DR was

TABLE 1. *Responses of Place Cells to Double Rotation of Distal and Proximal Cue Sets (Mean ± SEM)*

Cue control ($n = 129$)	Number of cells	Mean rotation angle (degree)	Mean R_{max}
Proximal objects	31 (24) ^a	+88 ± 3.1	0.510 ± 0.04
Distal cues	11 (9)	−88 ± 9.7	0.520 ± 0.09
Background cues	16 (12)	0 ± 2.36	0.500 ± 0.04
Remapping	Unpredicted location: 38 (29)	196 ± 18.7	0.320 ± 0.03
	Stop firing: 26 (20)	—	
	Gain field: 7 (6)	—	
	Total: 71 (55)	—	

^aValues in parentheses indicate percentage.

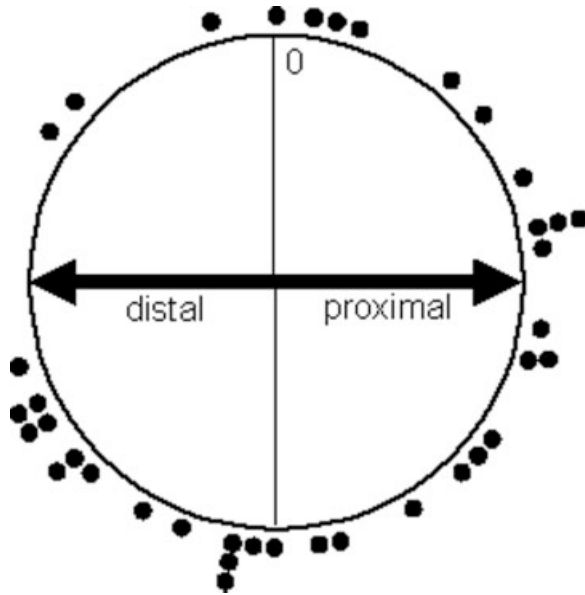


FIGURE 3. Circular distribution in 5° bins of rotation angles for the fields that appeared at a location not predicted by proximal objects, distal cues, or static background cues. Note that a few fields were considered to remap on the basis of a number of criteria (see text) although their rotation angles seemed to indicate either stability or control by proximal cues. The Watson U^2 test confirmed that the angles were uniformly distributed over the arena. Arrows indicate the angles corresponding to the rotation of the proximal objects and distal cues.

that cells controlled by either proximal or distal cues displayed a decrease of their mean firing rate (Proximal: $t(30) = 2.11$; $P < 0.05$; Distal: $t(10) = 2.62$; $P < 0.05$). In addition, cells controlled by proximal objects had a lower field and in-field peak firing rates in DR than in S2 (field mean rate: $t(30) = 3.59$; $P < 0.01$; in-field peak rate: $t(30) = 2.27$; $P < 0.05$). The field size was found to be decreased in cells controlled by distal cues ($t(10) = 2.36$; $P < 0.05$). These observations suggest that although some cells appeared to be specifically bound to one cue set, their firing rates were affected by the conflict between proximal objects and distal cues.

Overall, the results indicate that DR induced multiple responses in place cells. A large proportion of cells (71/129, 55%) displayed a remapping, suggesting that their activity was controlled by the whole proximal-distal configuration. Less often, cells were controlled by proximal objects (31/129, 24%) or by distal cues (11/129, 9%). Lastly, a relatively substantial number of cells maintained stable fields suggesting a control by background cues (16/129, 12%).

Influence of Proximal Objects on Place Cell Firing

No strong bias in the spatial distribution of firing fields relative to the objects was found since 56/122 cells (46%) had their field touching one object (the seven cells that did not have a field in standard sessions but gained a field in DR

session were not included in the analysis). We then asked if fields near the objects were more efficiently controlled by proximal objects than fields not touching the objects ("far"). The location of fields relative to the objects (near or far) did not influence the proportion of remapping (55 and 50% of near and far fields, respectively). In contrast, it had some effect on the proportion of cells selectively controlled by proximal cues. Cells with fields near the objects were likely to be controlled more by proximal objects than by distal cues (90% of near fields were controlled by the proximal objects, $\chi^2(1) = 5.04$, $P < 0.05$).

Coherence of Place Cell Responses

We did not record large ensembles of neurons. However, it was often observed that simultaneously recorded cells did not display coherent response to DR, a finding previously described (Shapiro et al., 1997; Tanila et al., 1997; Knierim, 2002). For example, some cells in the ensemble were controlled by proximal objects whereas other remapped or remained stable relative to background cues. Among the 65 sequences, 33 contained at least 2 simultaneously recorded cells (2.8 cells per sequence in average). Of these 33 sequences, 18 (55%) contained cells that displayed heterogeneous responses. Figure 5 shows the firing rate maps for the largest set of simultaneously recorded cells whose response is indicative of a partial remapping (Quirk et al., 1990; Shapiro et al., 1997; Tanila et al., 1997; Skaggs and McNaughton, 1998; Knierim, 2002; Lee et al., 2004; Yoganarasimha et al., 2006). These results are consistent with previous data showing that, within single recording sessions, different cells can be controlled by different kinds of cues (Shapiro et al., 1997; Tanila et al., 1997; Knierim, 2002).

Experience-Dependent Evolution of Place Cell Response

Overall, approximately half of the cells remapped after DR suggesting a conjoint control of their activity by both proximal objects and distal cues. We asked whether such responses were already observed during the initial exposures to DR or alternately resulted from a progressive learning of environmental modifications (Lever et al., 2002). Figure 6 displays the percentage of remapping as a function of the number of exposures to DR. It shows that place cells displayed remapping responses from the early exposures to DR and that this overall pattern did not change across repeated exposures. Thus, remapping does not appear to be related to progressive learning of environmental manipulations but rather reflect intrinsic differences between various response types.

Responses of Place Cells in CA1 and CA3 Subfields

Table 3 shows the proportion in the 4 categories (proximal objects, distal cues, background cues, remapping) of cells recorded in the CA1 and CA3 hippocampal subfields. Similar proportions of remapping were found. Most interestingly, the

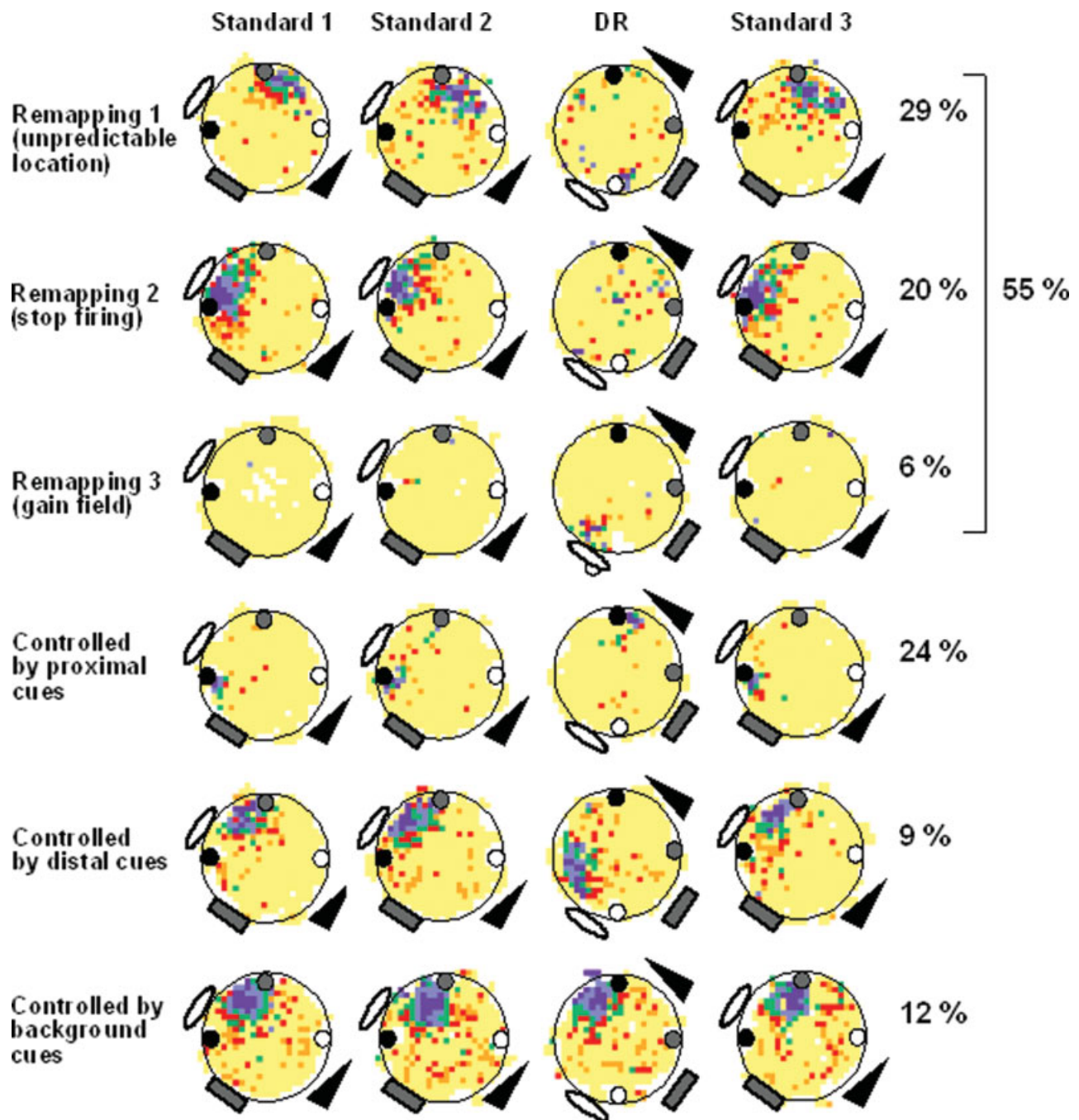


FIGURE 4. Representative sequences of rate maps in the four categories: cells controlled by distal cues, cells controlled by proximal objects, cells that remapped (fields appeared at an unpredict-

able location, cells stopped firing, or cells gained a field) and cells controlled by background cues (fields remained stable). Percentage of cells in each category is shown on the right ($n = 129$).

proportion of cells controlled by proximal and distal cues was not significantly different in the two subfields ($X^2(1)$ with correction of Yates for small samples; $X^2(1) = 2.47$, $P > 0.05$), suggesting that cells from the two subfields could not be dissociated on the basis of their pattern of response to DR. CA3 cells were recorded after CA1 cells therefore leaving the possibility that experience-dependent effects would have biased the comparison between the two cell types. This is unlikely, however, since occurrence of remapping did not increase with DR

repetition (see previous section) and no difference in the control by proximal objects and distal cues between the two cell types were found, thus indicating that CA1 and CA3 cells exhibited similar responses.

Effects of Cue Removal (CR Session)

In 25/65 sequences, DR was followed by a session in which a set of cues was removed (CR sessions).

TABLE 2.

Firing Characteristics (Mean \pm SEM) in the Four Categories of Place Cells as a Function of Response to Double Rotation

	Proximal objects ($n = 31$)		Distal cues ($n = 11$)		Background cues ($n = 16$)		Remapping ($n = 38$)	
	Standard 2	DR	Standard 2	DR	Standard 2	DR	Standard 2	DR
Mean rate (Hz)	0.820 \pm 0.136	0.556* \pm 0.069	0.791 \pm 0.177	0.335* \pm 0.077	0.50 \pm 0.104	0.71 \pm 0.239	0.972 \pm 0.154	0.838 \pm 0.166
Information content	1.348 \pm 0.087	1.243 \pm 0.086	1.526 \pm 0.216	1.489 \pm 0.180	1.461 \pm 0.114	1.403 \pm 0.143	1.238 \pm 0.107	1.155 \pm 0.117
Coherence	0.665 \pm 0.028	0.626 \pm 0.028	0.673 \pm 0.032	0.606 \pm 0.030	0.619 \pm 0.034	0.609 \pm 0.037	0.619 \pm 0.030	0.574 \pm 0.026
Field size	43.2 \pm 4.5	45.4 \pm 4.9	47.3 \pm 6.0	36.0* \pm 5.6	34.1 \pm 6.2	44.0 \pm 6.3	51.0 \pm 4.1	41.6 \pm 4.4
Field mean rate (Hz)	3.596 \pm 0.050	2.218* \pm 0.215	3.680 \pm 0.838	2.063 \pm 0.323	2.919 \pm 0.493	3.253 \pm 0.646	3.487 \pm 0.473	2.895 \pm 0.411
In-field peak rate (Hz)	8.386 \pm 1.460	5.250* \pm 0.598	7.383 \pm 1.700	4.379 \pm 0.637	6.444 \pm 1.422	6.966 \pm 1.649	7.103 \pm 0.952	5.960 \pm 0.878

The remapping category includes only cells those that had a place fields in both STD 2 and DR sessions. Asterisks indicate a significant difference between the two sessions, STD 2 and DR, in bold ($P < 0.05$).

The effect of removing cues was examined in 38 place cells. Nineteen cells displayed a firing field in both DR and CR sessions. Among these cells, 14 displayed stable firing fields between the two sessions. This was confirmed by analyzing the circular distribution of the rotation angles corresponding to the R_{Max} between CR and DR rate maps for these fields (Fig. 7A). A majority of the angles were clustered around the 0° (V test; clustering around 0° angle, $u = 3.98$; $P < 0.001$). No evidence of rate remapping was found (field rate: $t(13) = 0.33$; $P = 0.745$) (Leutgeb et al., 2005b).

The 24 remaining cells displayed unstable firing fields between CR and DR. This category included five cells with fields that shifted to a new location and seven cells that did not fire in DR session but fired in CR. Interestingly, observation of the rate maps of the latter cells suggested that, in some cases, field location could be predicted on the basis of the remaining cue set. An example is provided by Cell 5 in Figure 8, which stopped firing in DR but displayed a field in CR that appeared to be bound to the proximal objects as if it had been initially controlled by the objects. To give support to this observation, we analyzed the circular distribution of the rotation angles corresponding to the R_{Max} between CR and STD 2 rate maps for these 12 cells (Fig. 7B). Rotation angles corresponding to a control by either the proximal or distal cues were found in six cells. Thus, overall, 20 (53%) cells were considered to be controlled by the remaining cues.

Lastly, eight cells fired in DR and stopped firing in CR and four cells that had ceased firing in DR still did not fire in CR. Figure 8 shows representative examples of rate maps for the various categories of cells. Because cue removal was performed only occasionally, only 10 sequences contained at least two simultaneously recorded cells (2.3 cells per sequence in average). Six of these sequences (60%) contained cells that displayed heterogeneous responses.

We then examined to what extent the response of place cells to cue removal depended on their response to the double rotation that was conducted immediately before. As shown in Table

4, most fields that had remapped during DR regained control by the remaining cues in CR (16/24). In contrast, most fields that had followed a set of cues during DR failed to regain such control (9/10) ($\chi^2(1) = 6.94$, $P < 0.01$). The controlling cues were removed in 10 cells; only one of them switched to the remaining cues when controlling cues were removed in CR. Interestingly, 4 “control” cells for which non controlling cues were removed in CR maintained their field stable relative to the remaining cues. Figure 8 shows examples of the different responses. In summary, cells that were apparently controlled by the proximal/distal configuration (i.e., that remapped in DR) were nevertheless flexible enough to use either cue set in CR. Such flexibility was not observed in cells that were controlled by a specific cue set in DR. The results suggests that place cells do not exhibit equivalent ability to produce an adaptive response to environmental change. This ability seems to depend on how they process the various cues.

DISCUSSION

The purpose of this study was to investigate the interaction between proximal objects and distal cues in controlling hippocampal place cell activity. More specifically, we looked at place cell flexibility in response to cue manipulations that resulted in either discordant (rotation of proximal and distal cues in opposite directions) or incomplete information (removal of one set of cues). We found that place cells predominantly relied on the combined set of proximal objects and distal cues to anchor their firing fields. Less frequently, place cells relied on a selective cue set, with proximal objects largely prevailing over distal cues. Furthermore, removal of a cue set induced remapping and control by the remaining cues in half-and-half proportion. Interestingly, cells that had remapped in the double rotation session had a greater ability to use the remaining cue set than cells that had been controlled by a specific set of cues.

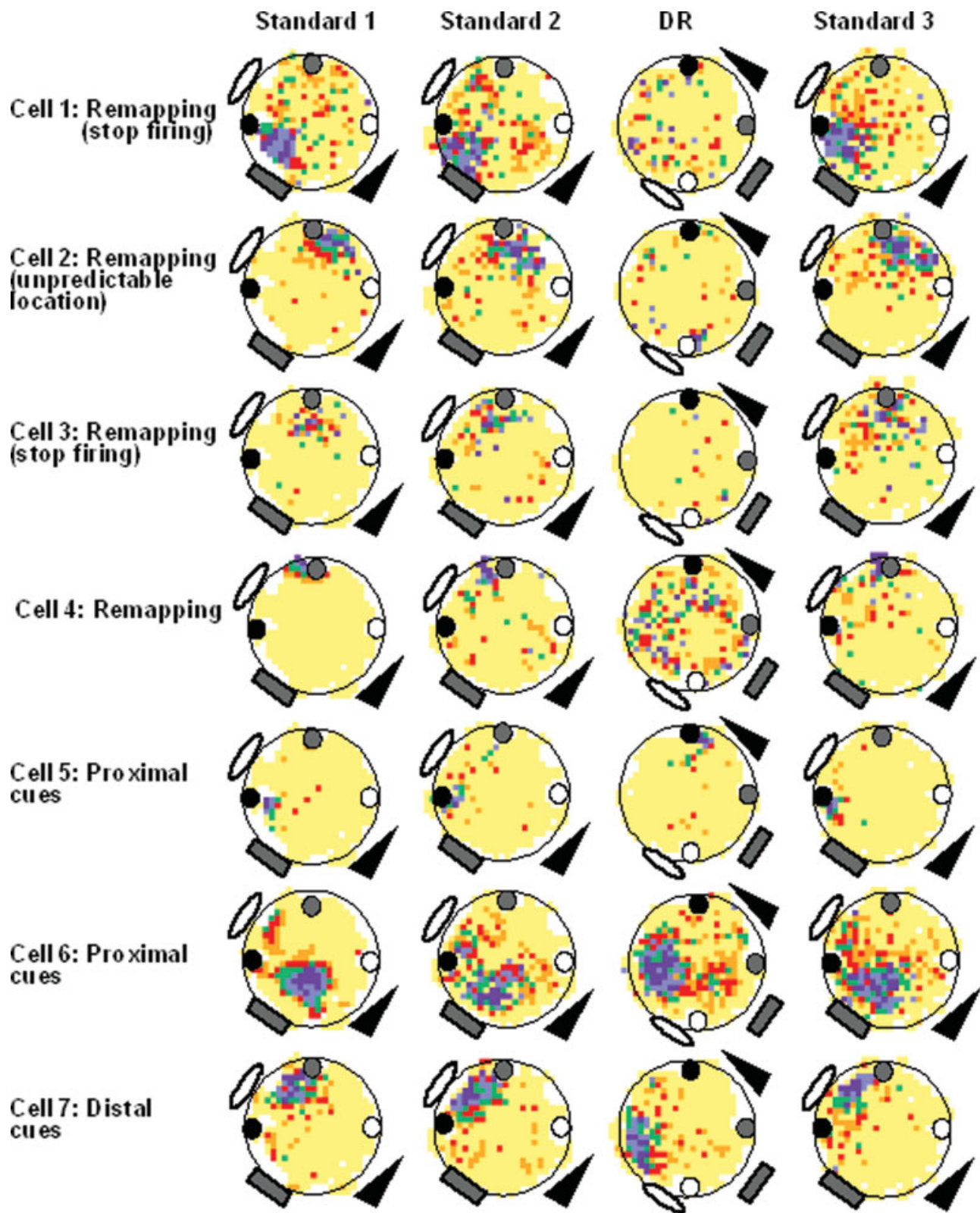


FIGURE 5. Largest set of simultaneously recorded cells illustrating the notion of partial remapping. Cells displayed heterogeneous responses to DR. Some were controlled by distal cues, some by proximal objects, and other remapped (fields appeared at unpredictable locations or cells stopped firing).

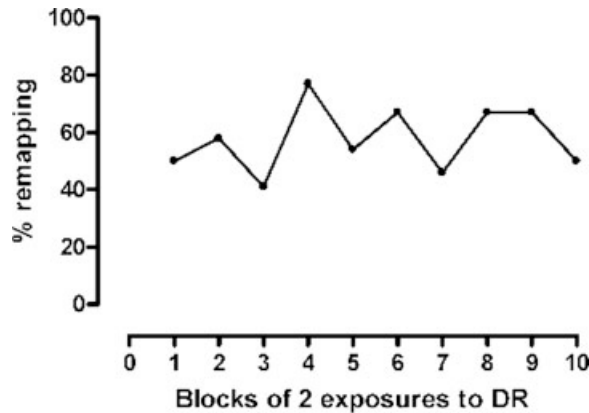


FIGURE 6. Occurrence of remapping as a function of the experience of the animal to DR. In contrast with previous studies (Shapiro et al. 1997), the proportion of remapping did not increase with experience but remained stable throughout the study.

Hierarchical Use of Proximal and Distal Cues

A number of experiments have managed to disentangle the relative influence of proximal and distal cues on place cell firing (Shapiro et al., 1997; Knierim, 2002; Knierim and Rao, 2003). In these studies, proximal cues were generally inserts placed on the floor of the apparatus or the shape of the apparatus itself. Cue manipulations such as double rotation (i.e., rotation of distal and proximal cues in opposite directions) or apparatus manipulations (translation, rotation) revealed a variety of responses. Shapiro et al. (1997) showed that, while a majority of place cells were influenced by the cue configuration (i.e., double rotation induced a remapping), other neurons were selectively controlled by one set of cues with distal cues exerting stronger control than proximal cues. A key issue, therefore, is whether the “configural>distal>proximal” hierarchy reveals an intrinsic property of the system or whether it can be modulated by extrinsic factors such as the nature of available cues.

In the present study, we examined whether the coexistence of proximal objects and distal cues would modify the cue-coding hierarchy described by Shapiro et al. (1997). More specifically, because intramaze objects influence place cell firing (Gothard et al., 1996; Cressant et al., 1997, 1999; Save et al., 1998; Lenck-Santini et al., 2005) and navigation (Save and Poucet, 2000; Oswald et al., 2003; Parron et al., 2004), we examined the possibility that the objects would gain influence on place cells relative to distal cues. We found that place cell firing fields could be individually controlled either by a combination of proximal and distal cues or by a selective set of cues, distal or proximal. That multiple responses were displayed in small ensembles of simultaneously recorded cells is consistent with the notion of partial remapping (Shapiro et al., 1997; Knierim et al., 1998; Knierim and McNaughton, 2001; Knierim, 2002). In addition, we found, like Shapiro et al., that the majority of fields (55%) were controlled by configural cues. The remaining fields were mostly influenced by the proximal objects (29% of the whole data set) while only a small fraction was influenced by the distal cues (9%).

The impact of the objects was seen in fields selectively controlled by the proximal cue set. Most of these fields were located close to the objects, an effect previously described by Lenck-Santini et al. (2005). However, although the objects greatly influenced firing fields, we observed that distal cues were not neglected. First, a number of fields followed the distal cues. Second, many fields were influenced by the combination of proximal and distal cues. Third, cells controlled by proximal cues displayed a decrease of their firing rate, thus suggesting that they were sensitive to the mismatch between the two kinds of cues. The influence of distal cues is not unexpected as these cues play a fundamental role in spatial navigation (Morris, 1981) and the control of place cell activity (Muller and Kubie, 1987; O’Keefe and Speakman, 1987). In addition, distal cues have often been shown to predominate over proximal cues in the control of spatial behavior (Gothard et al., 1996; Save and Poucet, 2000), place cells, and head direction cell firing (Cressant et al., 1997; Zugaro et al., 2001). The importance of distal cues probably resides in the fact that they provide reliable directional information. Maintaining a stable sense of direction may be a priority for the place cell system to anchor the hippocampal representation (Knierim et al., 1995; Burgess et al., 2000). Noticeably, in our situation the objects could also provide strong directional anchors (Cressant et al., 1997), thus possibly explaining their importance.

Overall, the results indicate a variation of the response hierarchy described by Shapiro et al. (1997). While a majority of cells remapped in DR indicating a dual cue control, as found in Shapiro et al., cells that relied on one cue set predominantly used proximal objects. This suggests that the place cell system displays different responses to cues depending on their nature. An important theoretical implication of these results is that the hierarchical response of the place cell system to cues is not completely determined by hard-wired processes but is adjustable via flexible mechanisms. This conclusion is consistent with Knierim’s results suggesting an influence of the rat’s individual experience on the hierarchical response. Although there was an overall equal balance of proximal and distal influence, some rats showed a clear proximal dominance, others showed a distal dominance and still others showed no dominance (Knierim, 2002).

Cue Removal: Pattern Completion vs. Pattern Separation

The cue removal session was made to further examine how the system responds to a partial but substantial deletion of

TABLE 3.

Distribution of Responses of CA1 and CA3 Place Cells to Double Rotation of Distal and Proximal Cue Sets

Cue control (n = 129)	CA1, n = 94 (%)	CA3, n = 35 (%)
Proximal objects	28	11.5
Distal cues	7	11.5
Background cues	10	20
Remapping	55	57

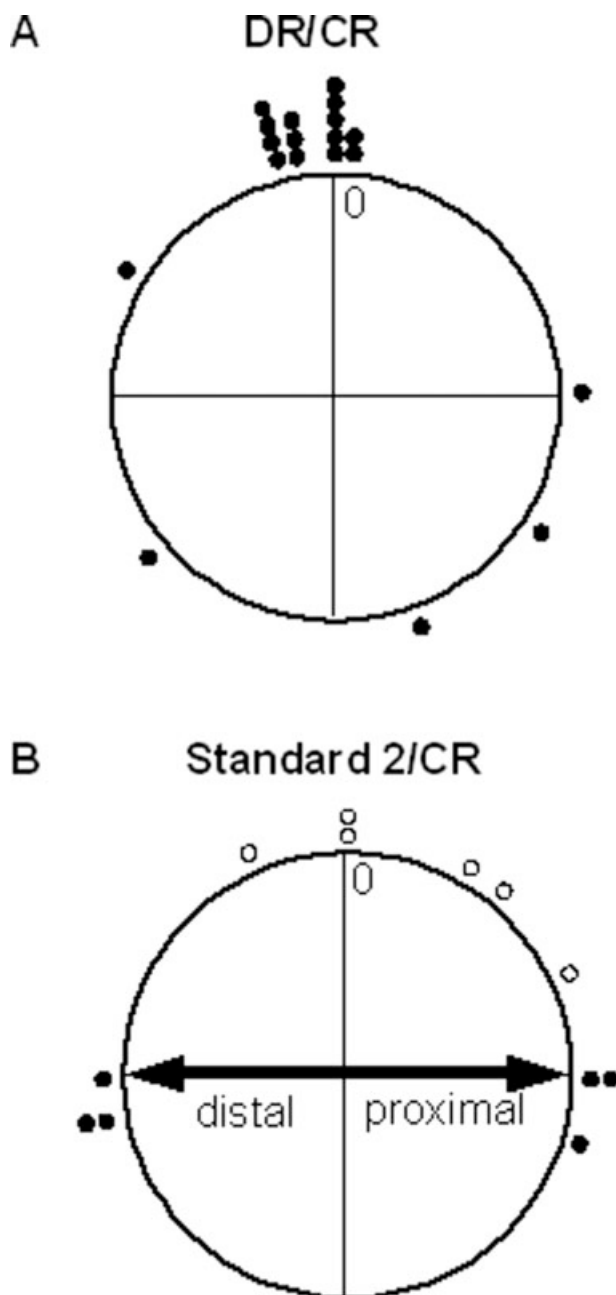


FIGURE 7. Circular distribution in 5° bins of the rotation angles corresponding to R_{Max} . (A) between DR and CR rate maps and (B) between STD 2 and CR rate maps. For the DR/CR correlation, a majority of fields remained stable. For STD 2/CR correlation, a number of fields appeared at a location that could be predicted on the basis of the rotation of one set of cue, distal or proximal, in DR, as if they had been specifically controlled by the cue set (filled circles). The other cells remapped to an unpredictable location (open circles).

cues. In the frame of attractor network models, cue deletion may activate two processes in the hippocampus, namely pattern completion and pattern separation (Leutgeb et al., 2005c). Pattern completion is the ability of an autoassociative network to recall a stored representation (firing pattern) in spite of a degraded input. In contrast, pattern separation is the ability to

generate and recall different representations from resembling inputs (Mizumori et al., 1989; McClelland and Goddard, 1996; Guzowski et al., 2004). Recent cue manipulation studies have shown evidence of pattern separation and pattern completion processes in place cells (Guzowski et al., 2004; Leutgeb et al., 2005a; Wills et al., 2005), thus supporting the hypothesis that attractor network dynamics is a plausible model of spatial information processing in the hippocampus (Samsonovitch and McNaughton, 1997). In our study, fields controlled by the remaining cues would reflect pattern completion and fields that remapped would reflect pattern separation.

We found both pattern completion and pattern separation processes in half-and-half proportions. Some fields were controlled by the remaining cues. Among those fields, most remained stable relative to the previous session (DR) and a small fraction shifted to a position in register with the initial reference frame (Standard session). The other fields displayed remapping. Thus, cue removal yielded co-occurrence of two contradictory responses in the place cell population, namely activation of an existing representation and formation of a new representation. Pattern completion was not predominant, which suggests that cue removal resulted in an ambiguous environment whose identity was uncertain to the animal. Because of this uncertainty, the responses we observed resulted in a competition between the pattern completion and pattern separation processes.

Interestingly, that some cells performed pattern completion while others performed pattern separation after cue removal could be predicted on the basis of their response during the double rotation session. Cells that performed pattern completion after cue removal, i.e., those that maintained stable firing fields, were mostly those that had remapped following double rotation. In contrast, cells that performed pattern separation, i.e., those that remapped, were mostly those that had followed one set of cues. Thus, how cells respond to cue removal seems to be determined by their ability to manage different kinds of cues and perhaps different reference frames. One possibility is that cells that respond to a combination of reference frames are able to use the individual frames to restore the whole representation when necessary. That several reference frames can be used separately is consistent with a previous study in which a room and an arena frame were dissociated after training by rotating the arena; the results revealed that the animals were able to use each frame independently to express spatial memory (Fenton et al., 1998). Similarly, our results indicate that some place cells were able to use each category of cues independently and thus to perform pattern completion. In contrast, other cells (i.e., those that were controlled by one cue set during DR) were unable to use the remaining cues to perform pattern completion.

Such heterogeneous responses of place cells do not comply with the predictions of attractor network models of cell ensemble activity. These models predict coherent responses in the absence of strong external input and sharp transition between pattern completion and pattern separation when the environment is modified (Wills et al., 2005). Thus, heterogeneity of responses following cue manipulation (double rotation and partial cue removal) may reflect the influence of other processes.

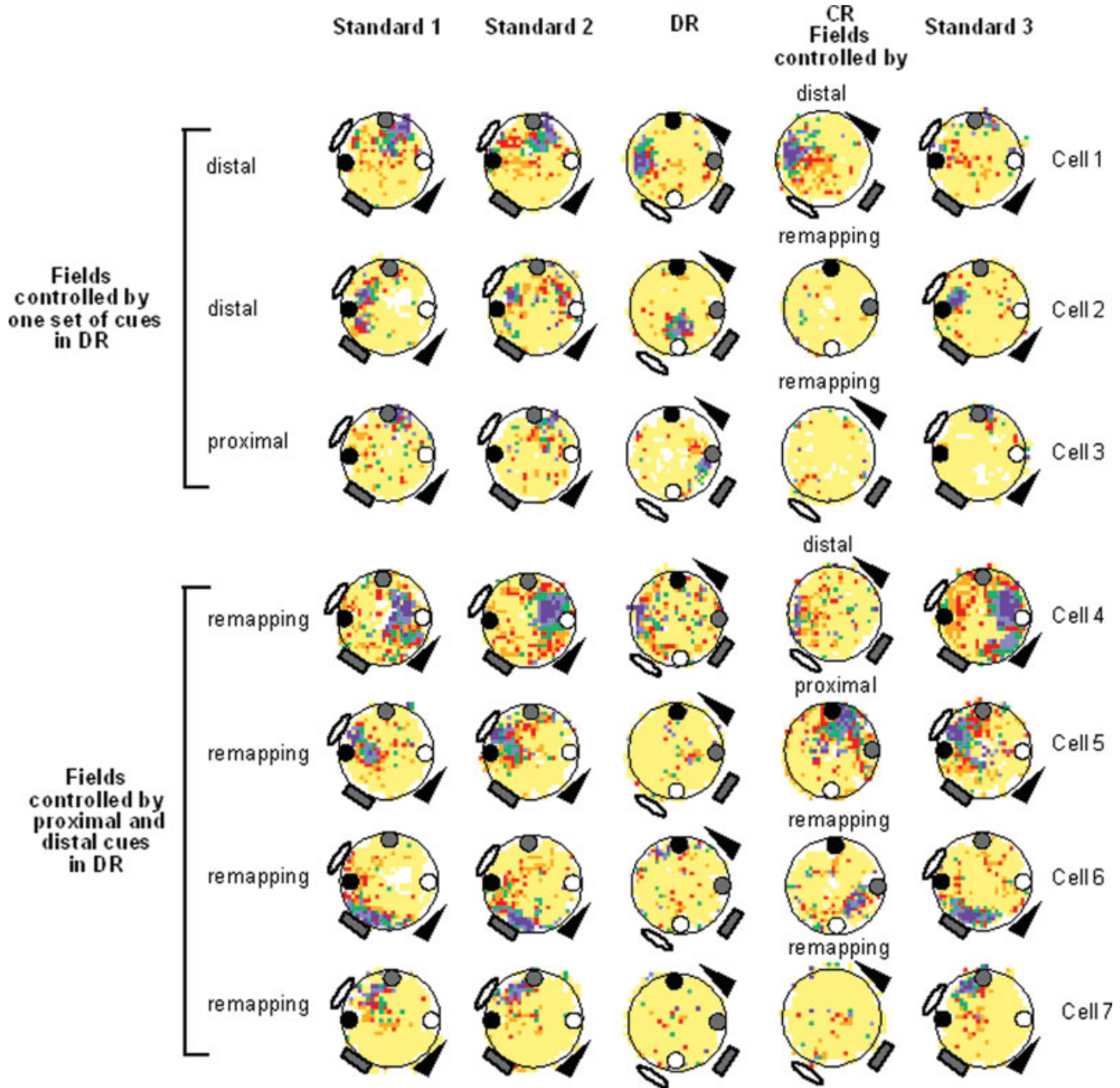


FIGURE 8. Examples of recording sequences including cue removal (CR) after double rotation. In CR session, one set of cues, proximal or distal, was removed irrespective of the effect of DR. The sequences are grouped according to their response in DR, i.e., whether the fields were controlled by a specific set of cues (three upper sequences) or by the proximal/distal configuration (three lower sequences). The type of response in DR is indicated on the left of each sequence. The type of response in CR is displayed above each rate map in CR. Half of the cells were controlled by

the remaining cues and half remapped. Most of the cells that had remapped in DR were controlled by the remaining cues in CR. Some fields were maintained stable relative to the DR session (Cell 4) while other shifted to a position in register with the initial reference frame (Standard session) (Cell 5). A smaller proportion of cells remapped in DR and CR (Cells 6 and 7). Most of the cells that had been controlled by one set of cues in DR were not controlled by the remaining set of cues in CR (Cells 2 and 3). A smaller proportion of cells were controlled by the remaining cues (Cell 1).

One possibility is the individual place cell responses to environmental cues (Shapiro et al., 1997; Knierim, 2002). However, cue processing at an individual cell level and its putative direct impact on the overall activity of the place cell system is a debated issue (Jeffery et al., 2004). It is notably assumed that the information received by a single place cell is not purely “sensory” in nature but likely involves higher-order multimodal

information that is related to some sensory aspects of the environment (e.g., spatial relationships) (O’Keefe and Speakman, 1987; Quirk et al., 1990; Jeffery et al., 2004). Thus, the output of the place cell system may not result from a competition between distinct inputs on an individual cell basis (Shapiro et al., 1997) but from a complex interaction between intrinsic attractor dynamics and external cue information (Knierim and

TABLE 4.

Number of Cells That Were Controlled or Not Controlled by the Remaining Cues After Cue Removal as a Function of Their Prior "Behavior" in Double Rotation Session

Double rotation ($n = 34$)	Cue removal	
	Fields controlled by the remaining cues	Fields not controlled by the remaining cues
Remapping	16	8
Fields controlled by one set of cues	1	9

For the 24 cells that were remapped in DR, either distal or proximal cues were removed in CR. For the cells that were controlled by one set of cues in DR, the controlling cues were removed in 10 cells and the not controlling cues in four cells (not included in the table). As expected, these latter cells maintained stable firing fields. Examples are shown in Figure 8.

McNaughton, 2001; Knierim, 2002). As proposed by Knierim (2002), a substantial environmental change would lead to an increase of the strength of inputs from external cues. These inputs would then compete with and eventually predominate over the strength of the intrinsic attractor circuitry.

Concluding Remarks

Overall, the present results show that the place cell system is an opportunistic system, potentially able to deal with available cues (objects vs. patterns, distal vs. proximal) and to flexibly adapt to environmental changes. The notion of hierarchical use of environmental cues is still unclear and requires further research. One possibility is that this hierarchy depends essentially on training. In this view, there is no hierarchy per se but the system is able to use whatever kind of cues to anchor place cell activity provided the animal has been appropriately trained. Another possibility is that there is a fundamental hierarchy that results from evolutionary processes, for example the prevailing use of distal cues over proximal cues for navigation. Furthermore, our results are consistent with the idea that flexibility of the place cell system results from an interaction between the properties of attractor networks based on modifiable synaptic weight and individual cell properties. As suggested by Knierim (2002), the attractor circuitry may be important for initial formation and progressive stabilization of a spatial representation. In contrast, individual place cells may be more rapidly involved in adaptive mechanisms following environmental changes. How these two aspects of the hippocampal flexibility are integrated remains to be determined.

Acknowledgments

The authors thank Henriette Lucchessi for histological work, Brian Burton and Francesca Sargolini for useful comments.

REFERENCES

- Batschelet E. 1981. Circular Statistics in Biology. New York: Academic Press.
- Bostock E, Muller RU, Kubie JL. 1991. Experience-dependent modifications of hippocampal place cell firing. *Hippocampus* 1:193–205.
- Bures J, Fenton AA, Kaminsky Y, Zinyuk L. 1997. Place cells and place navigation. *Proc Natl Acad Sci* 94:343–350.
- Burgess N, Jackson A, Hartley T, O'Keefe J. 2000. Predictions derived from modelling the hippocampal role in navigation. *Biol Cybern* 83:301–312.
- Cressant A, Muller RU, Poucet B. 1997. Failure of centrally placed objects to control the firing fields of hippocampal place cells. *J Neurosci* 17:2532–2542.
- Cressant A, Muller RU, Poucet B. 1999. Further study of the control of place cell firing by intra-apparatus objects. *Hippocampus* 9:423–431.
- Cressant A, Muller RU, Poucet B. 2002. Remapping of place cell firing patterns after maze rotations. *Exp Brain Res* 143:470–479.
- Fenton AA, Wesierska M, Kaminsky Yu, Bures J. 1998. Both here and there: Simultaneous expression of autonomous spatial memories in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:11493–11498.
- Gothard MG, Skaggs WE, Moore KM, McNaughton BL. 1996. Binding of hippocampal CA1 neural activity to multiple reference frames in a cue-based navigation task. *J Neurosci* 16:823–835.
- Guzowski JF, Knierim JJ, Moser EI. 2004. Ensemble dynamics of hippocampal regions CA3 and CA1. *Neuron* 44:581–584.
- Jeffery KJ, Anderson MI, Hayman R, Chakraborty S. 2004. A proposed architecture for the neural representation of spatial context. *Neurosci Biobehav Rev* 28:201–218.
- Kentros C, Hargreaves E, Hawkins RD, Kandel ER, Shapiro M, Muller RU. 1998. Abolition of long-term stability of new hippocampal place cell maps by NMDA receptor blockade. *Science* 280:2121–2126.
- Knierim JJ. 2002. Dynamic interactions between local surface cues, distal cues, and intrinsic circuitry in hippocampal place cells. *J Neurosci* 22:6254–6264.
- Knierim JJ, Kudrimoti HS, McNaughton BL. 1995. Place cells, head direction cells, and the learning of cue stability. *J Neurosci* 15:1648–1659.
- Knierim JJ, Kudrimoti HS, McNaughton BL. 1998. Interactions between idiothetic and external cues in the control of place cells and head direction cells. *J Neurophysiol* 80:425–446.
- Knierim JJ, McNaughton BL. 2001. Hippocampal place-cell firing during movement in three-dimensional space. *J Neurophysiol* 85:105–116.
- Knierim JJ, Rao G. 2003. Distal landmarks and hippocampal place cells: Effects of relative translation versus rotation. *Hippocampus* 13:604–617.
- Kubie JL. 1984. A driveable bundle of microwires for collecting single unit data from freely moving rats. *Physiol Behav* 32:115–118.
- Lee I, Yoganarasimha D, Rao G, Knierim JJ. 2004. Comparison of population coherence of place cells in hippocampal subfields CA1 and CA3. *Nature* 430:456–459.
- Lenck-Santini PP, Rivard B, Muller RU, Poucet B. 2005. Study of CA1 place cell activity and exploratory behavior following spatial

- and nonspatial changes in the environment. *Hippocampus* 15:356–369.
- Leutgeb JK, Leutgeb S, Treves A, Meyer R, Barnes CA, McNaughton BL, Moser MB, Moser EI. 2005a. Progressive transformation of hippocampal neuronal representations in “morphed” environments. *Neuron* 48:345–358.
- Leutgeb S, Leutgeb JK, Barnes CA, Moser EI, McNaughton BL, Moser MB. 2005b. Independent codes for spatial and episodic memory in hippocampal neuronal ensemble. *Science* 309:619–623.
- Leutgeb S, Leutgeb JK, Moser MB, Moser EI. 2005c. Place cells, spatial maps and the population code for memory. *Curr Opin Neurobiol* 15:738–746.
- Lever C, Wills T, Cacucci F, Burgess N, O’Keefe J. 2002. Long-term plasticity in hippocampal place-cell representation of environmental geometry. *Nature* 416:90–94.
- Markus EJ, Barnes CA, McNaughton BL, Gladden VL, Skaggs WE. 1994. Spatial information content and reliability of hippocampal neurons: Effects of visual input. *Hippocampus* 4:410–421.
- McClelland JL, Goddard GH. 1996. Considerations arising from a complementary learning systems perspective on hippocampus and neocortex. *Hippocampus* 6:654–665.
- Mizumori SJY, McNaughton BL, Barnes CA, Fox KB. 1989. Preserved spatial coding in hippocampal CA1 pyramidal cells during reversible suppression of CA3c output: Evidence for pattern completion in hippocampus. *J Neurosci* 11:3915–3928.
- Morris RGM. 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv* 12:239–260.
- Muller RU, Kubie JL. 1987. The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. *J Neurosci* 7:1951–1968.
- Muller RU, Kubie JL. 1989. The firing of hippocampal place cells predicts the future position of freely moving rats. *J Neurosci* 9:4101–4110.
- Nakazawa K, Quirk MC, Chitwood RA, Watanabe M, Yeckel MF, Sun LD, Kato A, Carr CA, Johnston D, Wilson MA, Tonegawa S. 2002. Requirement for hippocampal CA3 NMDA receptors in associative memory recall. *Science* 297:211–218.
- O’Keefe J, Dostrovsky J. 1971. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Res* 34:171–175.
- O’Keefe J, Conway DH. 1978. Hippocampal place cells in the freely moving rat: Why they fire where they fire. *Exp Brain Res* 31:573–590.
- O’Keefe J, Speakman A. 1987. Single unit activity in the rat hippocampus during a spatial memory task. *Exp Brain Res* 68:1–27.
- Oswald CJ, Bannerman DM, Yee BK, Rawlins JN, Honey RC, Good M. 2003. Entorhinal cortex lesions disrupt the transition between the use of intra- and extramaze cues for navigation in the water maze. *Behav Neurosci* 117:588–595.
- Parron C, Poucet B, Save E. 2004. Entorhinal cortex lesions impairs the use of distal but not proximal cues during navigation in the rat. *Behav Brain Res* 154:345–352.
- Paxinos G, Watson C. 1986. *The Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press.
- Paz-Villagr  n V, Lenck-Santini PP, Save E, Poucet B. 2002. Properties of place cell firing after damage to the visual cortex. *Eur J Neurosci* 16:771–776.
- Paz-Villagr  n V, Save E, Poucet B. 2004. Independent coding of connected environments by place cells. *Eur J Neurosci* 20:1379–1390.
- Quirk GJ, Muller RU, Kubie JL. 1990. The firing of hippocampal place cells in the dark depends on the rat’s recent experience. *J Neurosci* 10:2008–2017.
- Samsonovich A, McNaughton BL. 1997. Path integration and cognitive mapping in a continuous attractor neural network model. *J Neurosci* 17:5900–5920.
- Save E, Cressant A, Thinus-Blanc C, Poucet B. 1998. Spatial firing of hippocampal place cells in blind rats. *J Neurosci* 18:1818–1826.
- Save E, Paz-Villagr  n V, Alexinsky T, Poucet B. 2005. Functional interaction between the parietal cortex and hippocampal place cell firing in the rat. *Eur J Neurosci* 21:522–530.
- Save E, Poucet B. 2000. Involvement of the hippocampus and associative parietal cortex in the use of proximal and distal cues for navigation. *Behav Brain Res* 109:195–206.
- Shapiro ML, Tanila H, Eichenbaum H. 1997. Cues that hippocampal place cells encode: Dynamic and hierarchical representation of local and distal stimuli. *Hippocampus* 7:624–642.
- Sharp PE, Blair HT, Etkin D, Tzanetos DB. 1995. Influences of vestibular and visual motion information on the spatial firing pattern of hippocampal place cells. *J Neurosci* 15:173–189.
- Skaggs WE, McNaughton BL. 1998. Spatial firing properties of hippocampal CA1 populations in an environment containing two visually identical regions. *J Neurosci* 18:8455–8466.
- Tanila H, Shapiro ML, Eichenbaum H. 1997. Discordance of spatial representation in ensembles of hippocampal place cells. *Hippocampus* 7:613–623.
- Wills TJ, Lever C, Cacucci F, Burgess N, O’Keefe J. 2005. Attractor dynamics in the hippocampal representation of the local environment. *Science* 308:873–876.
- Wilson MA, McNaughton BL. 1993. Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science* 261:1055–1058.
- Yoganarasimha D, Yu X, Knierim JJ. 2006. Head direction cell representations maintain internal coherence during conflicting proximal and distal cue rotation: Comparison with hippocampal place cells. *J Neurosci* 26:622–631.
- Zugaro M, Berthoz A, Wiener SI. 2001. Background, but not foreground, spatial cues are taken as references for head direction responses by rat anterodorsal thalamus neurons. *J Neurosci* 21:RC154.

Chapitre de livre

Cue and goal encoding in rodents: a source of
inspiration for robotics?

Cue and goal encoding in rodents: a source of inspiration for robotics?

Etienne Save¹, Vincent Hok¹, Sophie Renaudineau¹, Carole Parron² and Bruno Poucet¹

¹ Laboratory of Neurobiology and Cognition UMR 6155 CNRS
Université de Provence, pôle 3C, 3 Place Victor Hugo, 13331 Marseille Cedex 03, France
Email: esave@up.univ-mrs.fr, vhok@up.univ-mrs.fr,
srenaudi@up.univ-mrs.fr, bpoucet@up.univ-mrs.fr
<http://www.up.univ-mrs.fr/lnc>

² Mediterranean Institute for Cognitive Neuroscience UMR 6193 CNRS
Université de la Méditerranée, 31 Chemin Joseph Aiguier, 13402 Marseille Cedex, France
Email: parron@incm.cnrs-mrs.fr
<http://www.incm.cnrs-mrs.fr>

Abstract. To navigate in their environment, rodents are able to rely on a variety of behavioral strategies. The most flexible strategies result from their ability to form spatial representations that encode information about spatial cues and about important places (nest, goals, etc). In the present chapter, we address the issues of cue and place encoding in the brain and suggest that they are crucial processes for behavioral flexibility and adaptation to environmental changes. First, it is suggested that, due to a different spatial distribution (distant *vs.* nearby) or nature (allothetic *vs.* idiothetic) of spatial cues, animals use and have to coordinate the use of multiple spatial reference frames. This involves activation of various brain regions including the hippocampus and neocortical areas. In particular, location-specific activity of hippocampal neurons (place cells) has been shown to be controlled by different reference frames. Second, we present new data suggesting that activity of prefrontal cortex neurons reflects goal encoding. It is concluded that the knowledge of these mechanisms in animals may be a source of inspiration to improve the adaptive capacities of navigating robots.

1.1 Space and navigation

All our everyday actions take place in time and space. The nature of space, a philosophical issue that has stirred up the minds since ancient times [40, chapter 1], remains enigmatic. Nevertheless, space is, above all, a substantial property of the world with which we have to deal permanently. Virtually all animal species are

equipped with mechanisms that allow perception and processing of space. Spatial behaviors, e.g. exploration, orientation, navigation, etc., result from activation of these mechanisms. Moving in the environment is crucial for survival (to fulfill fundamental needs such as hunger, thirst, etc.). Thus, spatial behaviors have a very strong adaptive value for all species. They have evolved so as to allow animals to gain independence relative to environmental changes.

Current studies of spatial behaviors in animals owe much of their conceptual background to the work of O’Keefe and Nadel [40]. Following Tolman’s early suggestion [63], these authors basically proposed that animals are able to form a representation of their environment in the brain, based on the encoding of multiple spatial relationships between landmarks. Using an allocentric representation (or spatial map), animals are able to exhibit flexible behavior, i.e. to adapt their behavior to environmental changes. This endows them with the capacity of using shortcuts, detours, or navigate to places from new starting locations, etc.

The issue of spatial mapping is also relevant for roboticists whose purpose is to build autonomous mobile robots. Indeed, to be autonomous, a robot must exhibit a number of abilities that characterize animal navigation based on an map-like representation. Thus, in the present chapter, we address the issue of how space is represented in the brain by examining two basic aspects of spatial mapping, namely cue encoding in different reference frames and goal encoding. Lesion and electrophysiological studies in rodents reveal that these functions correspond to activation of several brain regions that may be part of a large functional network devoted to spatial cognition.

1.1.1 Spatial perception and strategies

The strategy an animal uses to navigate is determined in part by the sensory information available. There are two sorts of information: idiothetic information originating from the animal’s own movement (proprioceptive, vestibular information), and allothetic information originating from the environment (visual, auditory, somatosensory, or olfactory information). Using only idiothetic cues, an animal is able to continuously calculate its position relative to a reference location (e.g. the nest) and eventually return in a straight path to this location. Signals generated by linear and angular acceleration are integrated during its journey, therefore allowing the animal to maintain and update a vector oriented toward the reference location. This strategy is called path integration and has been described in many different species from ants to humans [14, for a review]. Path integration does not allow flexible navigation since it offers the animal only one possible path to return to the nest. However, this is undoubtedly a strategy which is a fundamental part of the spatial behaviour of rodents. Indeed, it allows the maintenance of minimal navigational ability in absence of allothetic cues, i.e. in darkness. Functionally, it is assumed that rats use path integration when they have to explore a part of their environment they have not encountered before. Because “spatial mapping takes time” [66], initial excursions in an unfamiliar area have to be performed independently of allothetic cues. Rats therefore rely on path integration to generate a direct trajectory back to the nest. Due to accumulation of errors resulting from successive estimation of linear and angular movements however, path integration allows accurate navigation only across short distances [15].

Exploration allows the animal to progressively acquire some spatial knowledge of its whole environment [62, 44]. This supports the early hypothesis that attributed a role to exploratory activity in building and updating spatial maps [40]. For example, during exploration rats are able to memorize the spatial arrangement of a group of objects located in their environment. Experimentally, formation of a spatial representation is probed by examining the effects of changing the spatial relationships between objects. Modification of the object configuration induces an increase of exploration directed toward the displaced objects [62, 56]. Such renewal of exploration indicates that the spatial change has been detected and identified. This suggests that there exists in the brain a mechanism that performs a comparison between the familiar configuration and the new configuration, allowing detection of a mismatch. The re-activation of exploration is assumed to reflect an updating process of the representation.

Through exploration, an animal also encodes multiple spatial relationships between distant cues. The spatial map thus allows the animal to use a global frame of reference to encode important places and derive their spatial relationships. Because it is independent on the animal's position, the spatial map places few restrictions on the trajectories across that space, thus enabling flexible navigation. For example, a rat could be able to reach a familiar place from virtually any novel starting location. Navigation based on a spatial map is classically tested in the Morris water maze task [34]. The rat is released at the periphery of a circular tank containing opaque water and has to swim until it comes across a submerged, i.e. not visible, platform. In a few trials from different starting places, the rat learns the position of the platform. That the animals exclusively rely on distal room cues to reach the goal is tested during a probe trial with the platform removed. Rats usually spend more time in the area that contained the platform during training relative to other equivalent areas in the pool, thus exhibiting clear place learning ability. In addition, a rat is still able to reach the goal in a straight path when released from a starting place it has never experienced before.

Although a spatial map appears to be the most powerful mechanism to allow efficient navigation in any situation, it is likely that, when appropriate, animals use alternative strategies that require less cognitive demand than spatial mapping. In the most favorable situation, the goal is visible from the animal's starting place. Navigation thus implies that the animal decreases the distance between itself and the goal. Similarly, would the goal be an olfactory or auditory source, the rat would reach it by following the concentration gradient. In large environments however, the goal may be located beyond direct perception. A possible navigational strategy is then to learn a route. To do so, the animal has to memorize a sequence of associations between stimuli (landmarks) and movements (turn right, turn left, go ahead, etc). Navigation based on a route can be very fast as long as the animal can recall correctly the whole sequence. However, if a landmark is missing, the sequence is interrupted and the animal fails to reach the goal. This strategy does not allow adaptation to environmental changes. Note that path integration, visually-guided and route strategies are based on the processing of egocentric spatial relationships, i.e. relationships that are encoded in a reference frame centered on the animal whereas spatial mapping is based on the processing of allocentric spatial relationships.

2.2 Cue encoding and spatial reference frames

2.2.1 Why use different reference frames?

Space appears as a continuous, coherent dimension within which we perform our body or navigation movements. In fact, our sensation of a single spatial continuum results from the integration of multiple spaces each with its own reference frame. The reference frames are generated from a collection of stable environmental or internal cues that may be used as coordinate systems to compute locations and movements. A place can be memorized in different systems of reference which are usually coherent, thus allowing construction of an overall integrated spatial representation. Two main classes of reference frames can be considered, one is based on the processing of idiothetic information and the other on the processing of allothetic information. Although these two frames may be used independently to guide spatial behavior and allow specific strategies (see section 1.1.1), it is assumed that an animal's navigational strategy results from a complex interaction between allothetic and idiothetic cues. Allothetic information has been recently shown to be encoded in different frames of reference, based on the location, either proximal or distal, of environmental landmarks. Proximal landmarks are usually three dimensional objects located in the animal's locomotor space, which the animal can approach and closely investigate. In contrast, distal cues are stimuli that are located in the remote environment. They thus have a two dimension appearance and cannot be explored by the animal. For example, in the water maze task, distal cues are typically cues provided by the experimental room (posters, cabinets, windows, etc.) whereas proximal cues would be objects placed in the pool. Distal cues have been shown to be readily used by animals to perform various spatial tasks [13, 60]. In contrast, although "spatially separated intramaze cues can also serve as place cues" [38], it seems that using proximal cues for place learning requires more extensive training [20, 22, 59]. This suggests that encoding spatial information using proximal and distal cues activates distinct processes.

2.2.2 Hippocampal place cells

How the brain encodes the different frames of reference and manages their interaction is a major issue that has been investigated in the last ten years. Most studies have examined the contribution of the hippocampus in the use of reference frames using system and unit recording level approaches. The assertion that the hippocampus plays a crucial role in spatial cognition dates back to O'Keefe and Nadel's work [40]. These authors proposed that spatial maps are implemented in the hippocampus, based on data showing that hippocampal lesions disrupt spatial learning and above all, based on the existence of place cells [39]. Place cells are pyramidal cells located in the CA1 and CA3 sub-fields of the rat hippocampus. They are characterized by location-specific firing, that is they tend to fire rapidly when the animal enters a restricted area in the environment, called either the place field or the firing field [35, 46, 3, for reviews]. Place cells are virtually silent when the animal is outside the place field. Simultaneous recording of a large population of cells shows that an environment is entirely mapped at a neural level and can be described as a unique spatial pattern of place fields. Because there is some degree of overlapping between place fields, each location corresponds to activation of a large amount of place cells.

Thus, functional dynamics of the place cell system likely results from an interaction between spatial and temporal firing properties of cell populations.

2.2.3 Place cell activity is controlled by allothetic and idiothetic cues

Place cell activity has been demonstrated to be controlled by environmental cues. In a classical experiment, a rat has to continuously explore a circular arena to retrieve small food pellets that drop from a feeder fixed to the ceiling. Continuous exploration allows correct sampling of unit activity in all locations of the arena [37]. The arena is located in a cue-controlled environment, i.e. surrounded by opaque curtains, and the only available cue is a large white cardboard (the “cue card”) covering 100° of arc of the arena wall. A first recording session is conducted to identify the location of the place field relative to the cue-card. Ninety degree rotation of the cue-card in absence of the animal produces an equivalent rotation of the place field in a second recording session, thus showing that the cue-card exerts a control over place field location. Place cell activity is also strongly influenced by environmental features such as the geometric shape of the arena. Transporting a rat from a circular-shaped to a square-shaped apparatus usually induces a dramatic change in the spatial pattern of place fields. Some place cells begin to fire in a different location (e.g. south instead of north) while others stop firing. New fields, developed by previously silent cells, also appear. This phenomenon, known as remapping, reflects the capacity of the place cell system to encode separate representations of distinct environments. Each specific representation is reactivated when the animal recognizes the corresponding environment [36, 42]. Recent studies revealed that remapping may not occur on the first exposure to a new environment but may result from learning [31].

Most popular spatial tasks (e.g. water maze, etc.) are based on the use of visual cues while other sensory information, such as olfactory, auditory, tactile, movement-related information are made irrelevant or eliminated. Thus, one often assumes that rats mainly rely on visual information to form spatial maps. However, studies have accumulated indicating that various sensory modalities collectively contribute to place cell firing. For example, we have shown that blind rats that never had visual experience still exhibited normal place cell activity when adults [51]. Indeed, place fields were found to be controlled by objects located at the periphery of a circular arena. It was concluded that vision is not crucial for normal development of the place cell system and that other modalities may have compensated for the lack of vision. In particular, rats may have used conjointly tactile, olfactory, and idiothetic information to allow for place field stability. In another study, we compared the stability of place fields in darkness when olfactory cues deposited by the animal were either eliminated or available [52]. The results revealed that elimination of olfactory cues yielded unstable place fields. In particular, most cells stopped firing. Overall, these result are consistent with the idea that different sensory modalities can sustain place field stability. When they provide coherent information, these modalities act in combination and are able to compensate each other. Thus, the place cell system appears as an opportunist system whose function is to maintain spatial mapping in spite of environmental changes.

Among the sensory information that plays an important role in maintaining the stability of place fields, idiothetic information has been neglected for a long time.

The idea that place fields are controlled by such information was initially supported by two observations. First, place cell activity was found to be influenced by vestibular inputs. Rotation of the whole apparatus at a speed that is detected by the rat vestibular system, resulted in fields remaining stable relative to the experimental room reference frame [58, 67]. In contrast, for rotation speed below threshold for vestibular detection, place fields were found to rotate with the apparatus as the vestibular system was unable to detect the rotation of the apparatus. Second, place fields were found to persist after the room light had been turned off, i.e. in darkness, suggesting that the lack of visual inputs was compensated for by other sensory information including idiothetic cues [47]. In Save et al.'s study (2000), we also investigated the persistence of place fields in darkness to determine how robust this persistence would be during a prolonged dark period. Manipulating sensory information indicated that the fields remained stable provided olfactory cues (self-deposited odors) were available. However, olfactory cues by themselves are not sufficient to support spatial mapping [28]. Thus, combining olfactory and idiothetic cues may be necessary to keep stable spatial mapping.

A number of studies have suggested that allothetic and idiothetic reference frames interact to control place field location. Gothard and co-workers [20] recorded place cells as the animal was trained to shuttle on a linear track between a starting box and a fixed reward location. During the journey to the goal, the starting box could be moved to any of five possible locations (including the initial location) along the track so that after visiting the goal, the rat returned to the box which was then in a new location. When the box was moved toward the goal, a mismatch occurred in outbound journeys between the rat's location as estimated by path integration and its actual location relative to environmental cues. Gothard et al. found that in all journeys, place fields located on the initial part of the journey were controlled by path integration (relative to the starting box) whereas place fields located on the final part of the journey were controlled by external cues (Figure 2.2.3). For mismatch situations, place fields located at a distance from the box were found to shift from an internal (path integration) to an external (environmental) reference frame. This correction process was interpreted as revealing a competing interaction between the two reference frames.

One way to disentangle the respective influence of idiothetic and allothetic cues on place cells is to conduct "conflict" experiments in which the two kinds of information are in discrepancy. For example, Jeffery and O'Keefe [25] examined which kind of information, allothetic or idiothetic predominated in controlling place cell activity when a distal stimulus (a card) and the rat were rotated by different angles (90 and 180°). Prior to rotation trials, a number of training trials were made during which the rats experienced manipulation of the card (90° rotation). "Uncovered" rats could see the card moving from trial to trial and "covered" rats could not see the card moving. In conflict trials, place cells in uncovered rats displayed a switch from a control by idiothetic cues to a control by the card whereas in covered rats, the card predominated in controlling the place fields. This suggests that for uncovered rats the card was unreliable for anchoring place fields, thus leading the animal to switch to idiothetic cues.

In studies using conflicts, the environmental cue is generally rotated while the animal remains in a stationary arena. It was reported that for moderate mismatch (45°), place fields remain under the control of the visual cue [27, 50]. In contrast larger mismatch (e.g. 180°) results in the fields remaining stable suggesting a control

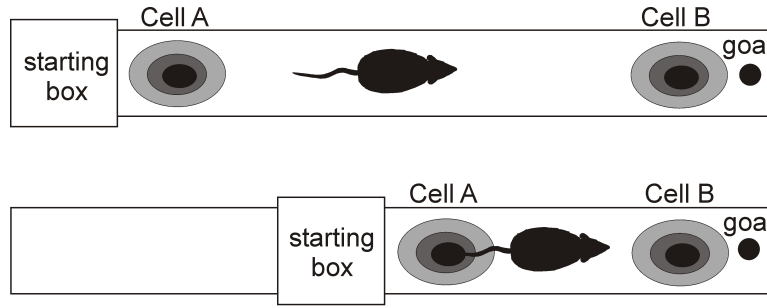


Fig. 2.2.3. A schematic of the experiment by Gothard et al. [20]. Rats were trained to shuttle on a linear track between a starting box and a food cup (goal). During outward journeys, the starting box could be moved to a different location (bottom). On the initial portion of the track, cells fired at a constant distance from the starting box (place field of cell A) whereas on the final portion, they fired relative to fixed cues (place field of cell B), suggesting a control by path integration and environmental cues, respectively.

by idiothetic cues [50] or in the formation of a new representation (remapping), suggesting a re-organization of the spatial map with respect to the environmental reference frame [20, 6, 27].

Overall, it is now acknowledged that place field stability basically results from a dynamic interaction between idiothetic cues and allothetic cues. Some authors have proposed that idiothetic cues are a primary drive for place cells resulting from the intrinsic wiring of the hippocampus whereas, allothetic cues are progressively embodied in the representation through experience-dependent modifiable connections [32].

2.2.4 Far and near: two allocentric reference frames based on distal cues and proximal objects

Although most spatial tasks are based on utilization of distal cues, a number of studies have suggested that rats may also rely on proximal cues to form an allocentric spatial representation. In a study by Gothard and colleagues [20], rats were trained to locate a goal relative to two objects placed directly in the circular arena that also contained distal cues, i.e. cues attached to the arena wall. Most place cells were found to fire as a function of a specific reference frame. Some of them were bound to the arena frame and others were bound to the reference frame defined by the two objects, thus indicating that place cells may use different environmental reference frames to anchor their place fields. Another interesting result from this study is that the rats needed a great number of trials to be trained to find the goal relative to the object array. This suggests that using a reference frame based on proximal objects is more difficult than using a reference frame based on distal cues for place learning. Thus, an important issue is to study the functional difference between these two reference frames so as to get some insight on how environmental spatial information is encoded in the brain. In our laboratory, Cressant et al. examined whether the control that objects directly placed in the arena may exert on place fields is similar to that exerted

by distal cues. The recording arena contained three distinct objects that were placed in a central position and formed an equilateral triangle [10]. A procedure similar to that previously used to determine the control exerted by a two dimension cue card on the angular position of place fields was used [36]. Thus, following an initial recording session, the effect on place fields of rotating the object array 90° was tested. The main finding is that the objects did not control the angular position of place fields, i.e. rotation of the object array did not induce equivalent rotation of the fields. In contrast, control was obtained when *a)* a wall-fixed cue card was added to the set of object, *b)* the three objects were clustered and located near the periphery of the arena and, *c)* the three objects were placed at the periphery, against the wall, and formed either an equilateral [10] or an isosceles [11] triangle configuration. Thus, the results demonstrate that place fields can be controlled by the object array. However, only when located near or at the periphery of the apparatus do objects appear to be used as landmarks, thus suggesting that their location is critical to their landmark status. Objects may be taken as landmarks when they delimit a large enough locomotor space. Because they induce more important parallax effects than distal cues, they are less reliable and may not be spontaneously used. Alternately, slender objects may not enable the animal to disambiguate the geometrically equivalent places in a circular arena, although the array is made of distinct objects forming an isosceles triangle configuration. This hypothesis is supported by the observation that the animal may neglect the identity of the objects [2] and that asymmetry of the array may be less easily detected when the objects are at a close distance rather than far away [10, 11].

2.2.5 Effects of conflicts between distal and proximal cues

In a study by Shapiro and co-workers [57], rats were trained to explore an elevated cross maze surrounded by several distal cues and covered by inserts (proximal cues) of different texture and visual aspect on each arm. They reported that rotation of the proximal and distal cues in opposite direction produced remapping in the majority of cells, thus reflecting that these cells encoded the relationships between the two kinds of cues. A smaller proportion of cells were found to be bound to distal cues and still fewer were bound to proximal cues. This was interpreted as reflecting a hierarchy of influence of available cues on place cell activity. Furthermore, the responses of small ensembles of simultaneously recorded neurons were discordant: some cells were seen to remap whereas other cells were seen to be controlled by either distal or proximal cues [61, 26, 5]. That only a few cells were controlled by proximal cues in Shapiro et al.'s study may be accounted for by the fact that the animals paid little attention to these 2D features. Thus, the hierarchy of influences proposed by these authors may be specific to their study.

Recently, we examined the possibility that the hierarchy may be different if the proximal cues available to the animal were more relevant for its behavior [48, unpublished data]. To address this issue, we recorded place cells while the rats explored an elevated circular arena containing three different objects (proximal cues) and surrounded by curtains holding three large distinct stimuli (distal cues). After two initial standard recording sessions, a double rotation (made while the rat was in its homecage) of the proximal and distal cues was made, with the two sets of cues rotated 90° in opposite directions. This resulted in a conflict between the distal and proximal reference frames (Figure 2.2.5). It was hypothesized that, if place

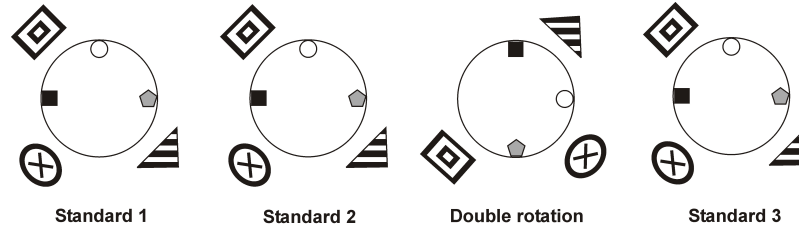


Fig. 2.2.5. Experimental design of Renaudineau et al.'s study. The circular arena containing 3 objects (shown as black square, white circle and gray pentagone) was surrounded by curtains where 3 distal cues were attached (shown as 3 different patterns). Upon isolation of place cells, four successive 16-minute recording sessions were conducted. Between each session, the rat was returned to its home cage. The double rotation resulted in a 180° mismatch between the objects and the distal cues.

fields are under control of the overall configuration of proximal and distal cues, then they should remap. Similarly, if place fields are under control of either proximal or distal cues, then they should rotate along with the set of cues they are anchored to. Lastly, if place fields are under control of background cues (e.g. folding or shades in curtains, etc.), then they should remain stable relative to the room. Of the 111 recorded place cells, 66 % were found to remap. This included cells whose fields shifted to an unpredictable location, cells that stopped firing, and cells that were formerly silent and that developed new fields. Eighteen percent of cells were found to be bound to proximal objects whereas a smaller proportion (10 %) was controlled by distal cues. Note that some cells remained stable relative to the room (7 %). Our results suggest that most cells encode the spatial relationships between proximal and distal cues and are thus consistent with Shapiro et al.'s findings [57]. Nevertheless, among the cells that responded to the double rotation by “following” one kind of cue, a majority were controlled by proximal objects. In contrast, Shapiro et al. [57] had obtained control mostly by the distal cues. This suggests that the hierarchical representation of cues within reference frames and therefore the relative strength of these frames is not pre-established but is flexible, depending on the nature of the cues available and, likely, on the task.

A nice demonstration that the animal is able to manage simultaneously multiple reference frames comes from Fenton and colleagues who developed a place avoidance task [15]. Rats were trained to avoid footshocks that were delivered when entering a portion of a circular arena that could be stable or rotated. Rotation of the arena allowed dissociation of two reference frames, a reference frame defined relative to the room and a reference frame defined relative to the arena. In the rotating condition, the rats were thus trained to avoid two target areas, one being in register with the room reference frame (non rotating target area) and the other being in register with the arena reference frame (rotating target area). Place cell recordings in this situation revealed that some fields were bound to the room reference frame and other to the arena reference frame. Overall, these results support the hypothesis of distinct processes for coding different reference frames [68].

2.2.6 Encoding of proximal and distal cues depends on multiple brain areas

Although hippocampal place cells play a pivotal role in spatial information processing in rodents, spatial information is not generated *ex nihilo* in the hippocampus. The hippocampus receives a large amount of inputs from cortical areas, via the entorhinal cortex. In particular, the associative parietal cortex has long been identified as an important area for the processing of spatial information [54, for a review]. To investigate the nature of the interactions between the parietal cortex and the hippocampus, we examined the effects of parietal cortical lesions on place cell firing as the rat performed pellet-chasing in a circular arena containing three objects placed at the periphery, and forming an isosceles triangle configuration [53]. Manipulation of environmental cues included 90° rotation of the objects (in the absence of the animal) to examine cue control and removal of the objects (in the presence of the animal). In the latter test, it is usually found that place fields remain stable relative to their position before removal, thus indicating that the animals are able to maintain a spatial representation by using other cues such as surface (e.g. olfactory) and idiothetic cues [52]. This aspect was strongly altered in parietal rats. Thus, when the objects were removed, place fields in parietal rats shifted from an arena to a room reference frame whereas in control rats they remained aligned with the arena reference frame, therefore suggesting that the associative parietal cortex plays a role in the establishment of the reference frame provided by proximal cues. Such results are consistent with a previous lesion study showing that rats with parietal lesions were unable to locate a submerged platform in the water maze when they had to rely on objects directly placed into the pool, whereas they exhibited control-like place learning abilities when they had to use distal room cues [55]. This is also coherent with the fact that encoding of a configuration of objects located in the arena was disrupted by parietal lesions [56]. Interestingly, rats with hippocampal lesions are impaired in using both proximal and distal cues [55] whereas rats with entorhinal lesions were impaired in using distal cues while the use of proximal cues was unaffected [41]. These results are consistent with the hypothesis of two processing systems, one devoted to the encoding of proximal cues and the other to distal cues. These systems are mediated by distinct functional networks that may converge to the hippocampus. What other structures may be part of each system has to be determined. Another issue is to investigate the respective contribution of these structures and their interaction in cue processing.

3.3 Goal encoding

Any representational system that guides the animal's behavior [30] must incorporate not only the animal's position but also the goal location, thus allowing the animal to select efficient paths toward the goal. So far, how the goal is represented in the brain is poorly understood. For example, we do not know whether goals are encoded in the hippocampus (by place cells) along with other locations or elsewhere in the brain. Hollup *et al.* [24] have recorded place cells in rats trained to find a submerged platform in an annular water maze. Activity was monitored as the animals performed a probe test with the platform removed. They found that firing fields accumulated in the segment of the annulus corresponding to the previous

platform location. This suggests that the goal is encoded in the hippocampus in the form of an over-representation of place fields that differentiates it from other places. Some studies have indicated that place fields tend to accumulate at reward locations. For example, place fields were found to shift to a new corner of a square apparatus when the reward was delivered at that location [4]. In contrast, other studies failed to find any evidence of goal encoding by place cells. For example, Lenck-Santini et al., recorded place cells as the rats performed a place preference task in a circular arena [29]. In this task, the animal is trained to locate an unmarked “trigger” zone and stay in this zone for 2 sec. Satisfying this condition triggers a food dispenser fixed to the ceiling, thus allowing delivery of a small food pellet that drops in the arena. Upon landing, the pellet rolls randomly on the arena floor and ends its course at an unpredictable location. The animal then searches for the pellet, eats it and returns to the trigger zone for another trial [49]. In Lenck-Santini et al.’s study, the only available cue was a white cue card attached to the arena wall. The trigger zone could be located at a distance or very close from the cue card thus allowing use of place navigation or cue navigation strategies, respectively. In neither situation, however, did we found an accumulation of place fields at the trigger location as compared with other locations in the arena. Overall, it is not clear whether there is a representation of the goal in the hippocampus. Thus, although it cannot be ruled out that this structure mediates some aspects of goal encoding, one has to search correlates of such processes in other brain areas.

Among these areas, the medial prefrontal cortex (mPFC) including the prelimbic and infralimbic areas is a good candidate. Indeed, this structure has been strongly involved in goal-directed behavior [12]. That the mPFC and the hippocampus are functionally related is bolstered by the existence of a direct monosynaptic, LTP-modifiable connection originating from the ventral hippocampus [17]. This suggests that some spatial signal is transmitted from the hippocampus to the mPFC. One possible effect of this connection may be to endow prefrontal neurons with the ability to exhibit location-specific firing in relation to the goal. To test this hypothesis, Poucet [43] recorded prefrontal units as the rats performed a pellet-chasing task in a circular arena but failed to observe location-specific firing. Note however, that pellet chasing is not a navigation task since the animal has to simply wander about in the environment. Because it is possible that frontal neurons are displaying location-specific activity when the rat is explicitly trained to navigate in space, we trained rats in the place preference task. We found that a substantial amount of cells in the prelimbic/infralimbic areas had clear spatial correlates [23]. Interestingly, the firing fields of prefrontal neurons were not homogeneously distributed across the arena. Two goal zones were more represented than the rest of the arena, namely, the “trigger” zone (the zone that the rat had to reach to trigger release of the reward) and the “landing” zone (the zone located under the food dispenser, where the pellet drops). The spatial discharge of prefrontal neurons was characterized by large and noisy firing fields, that were markedly different from the small and crispy fields of hippocampal place cells. This observation suggests that the two structures might have complementary roles. In addition to the spatial dimension of goal encoding likely provided by the hippocampus, the prefrontal representation of the goal may also allow integration of motivational, and emotional dimensions through its interactions with the amygdala complex and the nucleus accumbens [9]. Overall, these results support the hypothesis that prefrontal neurons encode goals

and suggest that the mPFC is part of a functional network that allows animals to select an appropriate strategy and to generate efficient paths toward the goal [19].

4.4 What might be useful for robots?

To be autonomous a mobile robot needs to be implemented with mechanisms allowing adaptation to changes. Current mobile robots are capable to some extent of learning and interacting with their environment to exhibit flexible behavior. However, they are generally tested in specific controlled laboratory environments while performing specific tasks, conditions that require relatively little behavioral flexibility. Thus, versatile robots have to be endowed with larger adaptive capacities.

In the present chapter, we have shown that cue and goal encoding are fundamental processes that contribute to behavioral flexibility in animals. They allow the animal to continue navigating effectively in spite of environmental changes. The functional properties that result from these processes may enable robots to exhibit greater adaptation and autonomy. We thus suggest a number of properties that may be relevant to robot adaptive navigation.

4.4.1 The conjoint use of allothetic and idiothetic cues.

Perception in robots is based on multiple sensors that provide information on their environment. Thus, like in animals, two sources of information, idiothetic and allothetic, are available to the robot. Idiothetic information corresponds to odometry and allothetic information is provided by laser range finders, sonars or vision. Most biologically-inspired models and robots (for example in the *animat* approach) use a combination of allothetic and idiothetic information to exhibit spatial behavior. Based on this combination, they are endowed with the capacity of constructing a topological or metric map, localizing themselves within this map and planning paths to reach goals [65, 18, 33]. One consequence of integrating these two kinds of information is that they can compensate for each other to some extent. Allothetic cues may compensate for cumulative errors resulting from the use of idiothetic information. On the contrary, idiothetic cues may serve to disambiguate distinct locations that appear the same to the robot's sensors. Such mechanisms however, do not necessarily reflect an actual adaptive response to environmental changes but rather apply to planned situations occurring in a stable environment. Adaptation to unexpected changes requires more sophisticated interactions.

Animal studies have suggested that allothetic and idiothetic information are processed in such an interactive way that animals can readily rely on one or the other or both kinds of information to maintain navigational ability, *depending on which is more appropriate at the time*. In other words, permanent and flexible interactions between different sources of information are key processes for adaptation to environmental changes. Among changes, those that yield conflict between idiothetic and allothetic information are not frequent, however. In animals and robots, the several reference frames are usually congruent. In contrast, situations in which a category of sensory information becomes suddenly unavailable are more likely to occur. For example, when visual information comes to be lacking or irrelevant,

olfactory and idiothetic information may be used to maintain a stable spatial representation. Another critical situation that requires complex interaction between idiothetic and allothetic information is when the animal faces an unfamiliar environment (see section 1.1.1). Thus, elaboration and use of a spatial representation in unstable environments requires integration of multimodal information that is coordinated, dynamically-adjusted and experience dependent.

4.4.2 The distinction between proximal and distal cues

The distinction between proximal and distal cues is particularly relevant for navigation in large, i.e. natural, environments. These two kinds of cues do not provide redundant information but rather complementary spatial information. Due to motion parallax effects, distal cues such as distant mountains, provide the animal with more stable directional information but poorer positional information than proximal cues. In contrast, proximal cues such as nearby rocks or trees, provide more precise positional information but poorer directional information than distal cues [41]. Thus, maintaining a goal-directed trajectory is aided more by distal cues whereas accurate place-learning is aided more by proximal cues. As far as we know, the functional distinction between proximal and distal cues is not usually implemented in mobile robots. Detection and categorization processes that are needed to perform such discrimination are likely not trivial. This is probably not critical for navigation in laboratory-sized environments but may improve accurate long distance travels in larger environments.

4.4.3 Distributed organization of space representation in the brain

Spatial navigation results from the interaction of multiple systems which are mediated by multiple brain regions [64]. Among these regions, the hippocampus plays a central role but recent work has emphasized the importance of a cooperation between the hippocampus and the neocortical areas. Thus, functions such as cue and goal encoding require permanent cortico-hippocampal interactions. For instance, cue encoding involves contribution of numerous cortical areas including, primary, parietal and entorhinal cortices and goal encoding involves the contribution of prefrontal areas. Such a distributed organization reflects not only the intricacy of the processes subserving spatial navigation but may be also crucial for flexibility.

Do robots need to be implemented with a functional architecture resembling as close as possible to the biological organization to exhibit autonomy? The increasing number of models of the hippocampus and its place cells, allowing robotic implementation of spatial representations, are consistent with this view [65, 8, 19]. These models constitute a basis for more complex neural architectures involving cortical and sub cortical modules such as that proposed by Banquet and colleagues in which hippocampo-prefronto-basal interactions were incorporated [1, 45]. Overall, implementing mechanisms inspired by biological systems may endow robots with sufficient autonomy to deal with unexpected environmental changes and achieve their mission. It may also help to understand the nature of the processes that enable animals to be autonomous.

References

1. Banquet J-P, Gaussier P, Quoy M, Revel A, Burnod Y (2002) Cortico-hippocampal maps and navigation strategies in robots and rodents. In: Hallan B, Floreano D, Hallam J, Hallam B, Hages G, Meyer J-A (eds) *From animals to animats 7*. MIT press, Boston, pp 141–150
2. Benhamou S, Poucet B (1998) Landmark use by navigating rats (*rattus norvegicus*) contrasting geometric and featural information. *J Comp Psychol* 112:317–322
3. Best PJ, White AM, Minai A (2001) Spatial processing in the brain: the activity of hippocampal place cells. *Ann Rev Neurosci* 24:459–486
4. Breese CR, Hampson RE, Deadwyler SA (1989) Hippocampal place cells: stereotypy and plasticity. *J Neurosci* 9:1097–1111
5. Brown JE, Skaggs WE (2002) Concordant and discordant coding of spatial location in populations of hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* 88:1605–1613
6. Bureš J, Fenton AA, Kaminsky Yu, Zinyuk L (1997) Place cells and place navigation. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:343–350
7. Burgess N, O’Keefe J (2002) Spatial Models of the Hippocampus. In: Arbib MA (ed) *The Handbook of Brain Theory and Neural Networks*, 2nd edn. MIT press, Cambridge, pp ???
8. Burgess N, O’Keefe J (2003) Neural representations in human spatial memory. *Trends Cogn Sci* 7:517–519
9. Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 26:321–352
10. Cressant A, Muller RU, Poucet B (1997) Failure of centrally placed objects to control the firing fields of hippocampal place cells. *J Neurosci* 17:2532–2542
11. Cressant A, Muller RU, Poucet B (1999) Further study of the control of place cell firing by intra-apparatus objects. *Hippocampus* 9:423–431
12. Dalley JW, Cardinal RN, Robbins TW (2004) Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev* 28:771–784
13. Eichenbaum H, Stewart C, Morris RG (1990) Hippocampal representation in place learning. *J Neurosci* 10:3531–3542
14. Etienne AS, Jeffery KJ (2004) Path integration in mammals. *Hippocampus* 14:180–192
15. Fenton AA, Stuchlik A, Kaminsky Yu, Zahálka A, Bureš J (1998) Place avoidance by path integration is only accurate for about 7 m without useful visual and substratal cues. *Soc Neurosci Abst* 24:1685
16. Fenton AA, Wesierska M, Kaminsky Yu, Bureš J (1998) Both here and there: simultaneous expression of autonomous spatial memories in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:11493–11498
17. Ferino F, Thierry AM, Glowinski J (1987) Anatomical and electrophysiological evidence for a direct projection from Ammon’s horn to the medial prefrontal cortex in the rat. *Exp Brain Res* 65:421–426
18. Filliat D, Meyer J-A (2003) Map-based navigation in mobile robots. I. A review of localization strategies. *J Cog Syst Res* 4:243–282

19. Gaussier P, Revel A, Banquet J-P, Babeau V (2002) From view cells and place cells to cognitive map learning: processing stages of the hippocampal system. *Biol Cybern* 86:16–28
20. Gothard KM, Skaggs WE, McNaughton BL (1996) Dynamics of mismatch correction in the hippocampal ensemble code for space: interaction between path integration and environmental cues. *J Neurosci* 16:8027–8040
21. Gothard KM, Skaggs WE, Moore KM, McNaughton BL (1996) Binding of hippocampal CA1 neural activity to multiple reference frames in a landmark-based navigation task. *J Neurosci* 16:823–835
22. Gould-Beierle KL, Kamil AC (1996) The use of local and global cues by Clark nutcrackers, *Nucifraga Columbiana*. *Anim Behav* 52:519–528
23. Hok V, Save E, Lenck-Santini P-P, Poucet B (2005) Coding for spatial goals in the prelimbic/infralimbic area of the rat frontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:4602–4607
24. Hollup SA, Molden S, Donnet JG, Moser M-B, Moser EI (2001) Accumulation of hippocampal place fields at the goal location in an annular watermaze task. *J Neurosci* 21:1635–1644
25. Jeffery KJ, O’Keefe J (1999) Learned interaction of visual and idiothetic cues in the control of place field orientation. *Exp Brain Res* 127:151–161
26. Knierim JJ (2002) Dynamic interactions between local surface cues, distal landmarks, and intrinsic circuitry in hippocampal place cells. *J Neurosci* 22:6254–6264
27. Knierim JJ, Kudrimoti HS, McNaughton BL (1998) Interactions between idiothetic and external landmarks in the control of place cells and head direction cells. *J Neurophysiol* 80:425–446
28. Lavenex P, Schenk F (1997) Olfactory cues potentiate learning of distant visuospatial information. *Neurobiol Learn Mem* 68:140–153
29. Lenck-Santini P-P, Muller RU, Save E, Poucet B. (2002) Relationships between place cell firing fields and navigational decisions by rats. *J Neurosci* 22:9035–9047
30. Lenck-Santini P-P, Save E, Poucet B (2001) Evidence for a relationship between place-cell spatial firing and spatial memory performance. *Hippocampus* 11:377–390
31. Lever C, Wills T, Cacucci F, Burgess N, O’Keefe J (2002) Long-term plasticity in hippocampal place-cell representation of environmental geometry. *Nature* 416:90–94
32. McNaughton BL, Barnes CA, Gerrard JL, Gothard K, Jung MW, Knierim JJ, Kudrimoti H, Qin Y, Skaggs WE, Suster M, Weaver KL (1996) Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system. *J Exp Biol* 199:173–185
33. Meyer J-A, Filliat D (2003) Map-based navigation in mobile robots. II. A review of map-learning and path planning strategies. *J Cog Syst Res* 4:283–317
34. Morris RGM (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv* 12:239–260
35. Muller RU (1996) A quarter of a century of place cells. *Neuron* 17:813–822
36. Muller RU, Kubie JL (1987) The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. *J Neurosci* 7:1951–1968
37. Muller RU, Kubie JL, Ranck JB (1987) Spatial firing pattern of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment. *J Neurosci* 7:1935–1950

38. O'Keefe J (1979) Hippocampus function: does the working memory hypothesis work ? Should we retire the cognitive map theory ? *Behav Brain Sci* 2:339–343
39. O'Keefe J, Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Res* 34:171–175
40. O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford University Press, London
41. Parron C, Poucet B, Save E (2004) Entorhinal cortex lesions impairs the use of distal but not proximal landmarks during navigation in the rat. *Behav Brain Res* 154:345–352
42. Paz-Villagr  n V, Save E, Poucet B (2004) Coding of separate and connected spatial contexts by place cells. *Eur J Neurosci* 20:1379–1390
43. Poucet B (1997) Searching for spatial unit firing in the prelimbic area of the rat medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 84:151–159
44. Poucet B, Chapuis N, Durup M, Thinus-Blanc C (1986) A study of exploratory behavior as an index of spatial knowledge in hamsters. *Anim Learn Behav* 14:93–100
45. Poucet B, Lenck-Santini P-P, Hok V, Save E, Banquet J-P, Gaussier P, Muller RU (2004) Spatial navigation and hippocampal place cell firing: the problem of goal encoding. *Rev Neurosci* 15:87–109
46. Poucet B, Lenck-Santini P-P, Save E (2003) Drawing parallels between the behavioural and neural properties of navigation. In: Jeffery KJ (ed) *The neurobiology of spatial behaviour*. Oxford University Press, Oxford, pp 187–198
47. Quirk GJ, Muller RU, Kubie JL (1990) The firing of hippocampal place cells in the dark depends on the rat's recent experience. *J Neurosci* 10:2008–2017
48. Renaudineau S, Poucet B, Save E (unpublished data) Effects of a conflict between proximal objects and distal cues on place cell activity.
49. Rossier J, Schenk F, Kaminsky Yu, Bure   J (2000) The place preference task: a new tool for studying the relation between behavior and place cell activity in rats. *Behav Neurosci* 114:273–284
50. Rotenberg A, Muller RU (1997) Variable coupling to a continuous viewed stimulus: evidence that the hippocampus acts as a perceptual system. *Phil Trans R Soc Lond B* 352:1505–1513
51. Save E, Cressant A, Thinus-Blanc C, Poucet B (1998) Spatial firing of hippocampal place cells in blind rats. *J Neurosci* 18:1818–1826
52. Save E, Nerad L, Poucet B (2000) Contribution of multiple sensory information to place field stability in hippocampal place cells. *Hippocampus* 10:64–76
53. Save E, Paz-Villagr  n V, Alexinsky T, Poucet B (2005) Functional interaction between the parietal cortex and hippocampal place cell firing in the rat. *Eur J Neurosci* 21:522–530
54. Save E, Poucet B (2000a) Hippocampal-parietal cortical interactions in spatial cognition. *Hippocampus* 10:491–499
55. Save E, Poucet B (2000b) Involvement of the hippocampus and associative parietal cortex in the use of proximal and distal landmarks for navigation. *Behav Brain Res* 109:195–206
56. Save E, Poucet B, Foreman N, Buhot MC (1992) Object exploration and reactions to spatial and non-spatial changes in hooded rats following damage to parietal cortex or hippocampal formation. *Behav Neurosci* 106:447–456
57. Shapiro ML, Tanila H, Eichenbaum H (1997) Cues that hippocampal place cells encode: dynamic and hierarchical representation of local and distal stimuli. *Hippocampus* 7:624–642

58. Sharp PE, Blair HT, Etkin D, Tzanetos, DB (1995) influences of vestibular and visual motion information on the spatial firing pattern of hippocampal place cells. *J Neurosci* 15:173–189
59. Sutherland RJ, Dyck, RH (1984) Place navigation by rats. *Can J psychol* 38:322–347
60. Suzuki S, Augerinos G, Black AH (1980) Stimulus control of spatial behavior in the eight-arm maze in rats. *Learn Motiv* 11:1–18
61. Tanila H, Shapiro ML, Eichenbaum H (1997) Discordance of spatial representation in ensembles of hippocampal place cells. *Hippocampus* 7:613–623
62. Thinus-Blanc C, Bouzouba L, Chaix K, Chapuis N, Durup M, Poucet B (1987) A study of spatial parameters encoded during exploration in hamsters. *J Exp Psychol: Anim Behav Proc* 13:418–427
63. Tolman EC (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychol Rev* 55:189–208
64. Touretzky DS, Redish AD (1996) Theory of rodent navigation based on interacting representations of space. *Hippocampus* 6:247–270
65. Trullier O, Wiener SI, Berthoz A, Meyer J-A (1997) Biologically artificial navigation systems: review and prospects. *Prog Neurobiol* 51:483–544
66. Whishaw IQ (1998) Spatial mapping takes time. *Hippocampus* 8:122–130
67. Wiener SI, Korshunov VA, Garcia R, Berthoz A (1995) Inertial substratal and landmark cue control of hippocampal CA1 place cell activity. *Eur J Neurosci* 7:2206–2219
68. Zinyuk L, Kubik S, Kaminsky Yu, Fenton AA, Bureš J (2000) Understanding hippocampal activity by using purposeful behavior: place navigation induce vs. place cell discharge in both task-relevant and task-irrelevant spatial reference frames. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:3771–3776

Article n°2

Mice lacking ZIF 268 immediate early gene are impaired in the expression of long-term spatial memory by CA1 hippocampal place cells

Sophie RENAUDINEAU ¹, Bruno POU CET ¹, Serge LAROCHE ², Sabrina DAVIS ² and Etienne
SAVE ¹

¹ Laboratoire de Neurobiologie de la Cognition, UMR 6155, Université Aix-Marseille, CNRS, Marseille, France

² Laboratoire de Neurobiologie de l'Apprentissage, de la Mémoire et de la Communication, CNRS UMR 8620, Université Paris-sud, Orsay, France

Running title : ZIF268 KO mice and place cells

Key words : Place cells, hippocampus, Zif268 gene, spatial memory, mice

Number of pages: ; Number of figures: 7; Number of tables: 0

Correspondence : Dr SAVE Etienne, Laboratory of Neurobiology and Cognition, UMR 6155–Aix-Marseille Université CNRS, Pôle 3C, 3 place Victor Hugo, 13331 Marseille Cedex 3, France. Tél: +33 488 57 68 69. Fax: +33 488 57 69 72, E-mail : etienne.save@univ-provence.fr

SUMMARY

Recent studies have shown that Zif268, an immediate early gene of the Egr family, plays a crucial role in late LTP and in long term memory. Because hippocampal place cells are involved in the formation of spatial long term memory, it has been suggested that inherent synaptic change necessary to maintain spatial representation over time would depend on LTP-like mechanisms. In the present study, we tested the hypothesis that place cell long term spatial memory would require activation of Zif268 gene by recording CA1 place cells in mice lacking the Zif268 gene. Zif268 gene deletion did not prevent formation of the representation of a novel environment and did not affect its stability after a short delay (1 h). Exposure to the novel environment resulted in instable representation in subsequent exposure to the familiar environment. In addition, stability of the representation of the novel environment was affected after a long delay (24 h). The results suggest that Zif268 gene is a critical element for expression of long term memory in hippocampal place cells and support the notion that place cell activity requires LTP-like mechanisms to maintain spatial representation.

INTRODUCTION

Current hypotheses on the molecular mechanisms of learning and memory suggest that rapid gene regulation and protein synthesis are necessary for the stabilization of traces in long term memory by allowing persistent synaptic changes and neural network reorganization. In particular, activation of immediate early genes (IEGs), a family of genes that are rapidly and transiently expressed in response to neuronal stimulation may be critical to such long-lasting modifications (Davis et al., 2003). Among these genes, Zif268, encoding a transcription factor of the Egr family, has been proposed to play an important role in long term potentiation (LTP), a form of synaptic plasticity that may be a crucial mechanism for learning and memory (Abraham et al., 1991; Knapska and Kaczmarek, 2004, for a review). Zif268 is found in several parts of the brain but is highly expressed in the hippocampal formation (CA1, CA3, subiculum, entorhinal cortex). Induction of LTP in the dentate gyrus produces rapid and consistent activation of Zif268 (Cole et al., 1989; Wisden et al., 1990) but a number of studies have shown that Zif268 contributes to the maintenance of LTP but not to its induction (e.g. Abraham et al., 1991; 1993). Consistent with this hypothesis, a recent work using mice with a targeted inactivation of the Zif268 gene demonstrated that mutant mice exhibited early but not late LTP in the dentate gyrus. Most importantly, these mice were characterized by a long-term but not a short-term memory deficit in spatial (navigation in the water maze) and non spatial (conditioned taste aversion, olfactory discrimination in social transmission of food preference, object recognition) tasks (Jones et al., 2001). Overall, the data suggest a relationship between Zif268, LTP and long-term memory processes within the hippocampal formation.

Spatial memory is a form of long-term memory that implicates the hippocampus. One evidence is the existence of hippocampal place cells that fire in response to the animal location within a particular environment (O'Keefe and Dostrovsky, 1971). Each place cell discharges only when the animal is in a cell-specific, stable region called its "place field", and is usually silent elsewhere in the environment. That place cells are elements of a long-term spatial memory system is based on at least, two properties. First, a given cell reinstates the same place field upon multiple exposures to the same environment for as long as the cell can be recorded (Thompson and Best, 1990). Second, the spatial firing pattern of a population of cells is environment-specific. Exposure of a new environment induces formation of a new spatial firing pattern, a phenomenon called "remapping" (Muller and Kubie, 1987; Lever, et al., 2002), indicating that the place cell system elaborates and holds distinct memories for

distinct contexts, each firing pattern being reactivated when the animal is exposed to the corresponding environment.

As suggested in a number of reports, LTP would be an important mechanism for enabling place cells to maintain long term spatial memory (Rotenberg et al., 1996; Kentros et al., 1998; Ekstrom et al., 2001; Dragoi, et al., 2003). Thus, as an element of this mechanism, Zif268 may be necessary to the learning and memory properties of place cells. So far, this possibility has never been studied, however. In the present study we examined the involvement of Zif268 in the capacity of the place cell system to encode and maintain new representations over time. Since Zif268 mutant mice exhibited a deficit in long term LTP and memory (Jones et al., 2001), we hypothesized that formation and short term maintenance of the representation of a new environment would not be affected whereas its long-term maintenance would be disrupted.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Animals

Zif268 mutant mice were generated using 129/SV ES cells injected into C57BL/6J blastocytes and backcrossed onto a C57BL/6J background (Topilko et al., 1998). The targeted inactivation of the Zif268 gene involved an insertion of a *LacZ-Neo* cassette between the promoter and coding sequence. An additional frameshift mutation at the level of an *NdeI* restriction site corresponded to the beginning of the DNA-binding domain. As shown in previous work, gross brain anatomy, basal synaptic transmission in the hippocampus, cell excitability and general behavior and motor activity are normal in Zif268 mice (Jones et al., 2001). Post-study genotyping analysis confirmed the genotype of both Zif268^{-/-} and Zif268^{+/-} mice. Wild-type (WT) and Zif268 mutant mice were housed in individual cages (36 x 20 x 14 cm) located in a temperature-and light-controlled room (degrees) with a 12 h light/dark cycle and provided with ad libitum food and water.

Surgery

Seven Zif268 mutant mice and seven WT mice (30 g) were used. Animals were anesthetized with a i.p. injection of xylazine (10 mg/kg, Rompun, Bayer, France) and ketamine (100 mg/kg, Imalgène, Merial, France) and placed in Kopf stereotaxic apparatus (Kopf instruments, Tujunga, CA). A midline incision of the scalp was made and the skin and muscles were carefully retracted to expose the skull.

An implant made of four tetrodes (four twisted 25 μm nichrome wires inserted into a single 30 gauge guide-cannula) secured to a 18-pins Mill-Max connector and of 3 drive screws with teflon cuffs was anchored to the animal's skull by using cyanoacrylate glue and dental cement (dentsply, Woodbridge, ON, Canada). When implanted, the electrodes and the cannula could be moved down in the brain by screwing the screws into the teflon cuffs. The tip of the tetrodes was positioned above the right hippocampus (AP: -2 mm and L: -2 mm relative to bregma). The animals received injections of an antibiotic (Terramycine, 60 mg/kg, i.m., Pfizer, Paris, France) and an analgesic (Tolfedine, 0.06 mg/kg, s.c., Vetoquinol, Lure, France) and were allowed to recover for 10 days before cell screening started. At the completion of the experiment, the brains were perfused, sectioned and stained with cresyl violet to identify electrode tracks. All treatments were performed in accordance with NIH (NIH publication n° 86-23, revised 1987), European guidelines (European Community Council Directive, november 24, 1986, 86/609/EEC) and french guidelines (Council directive n° 87848 of the Direction des Services Vétérinaires de la Santé et de la Protection Animale permission n° 13.24 from the Ministère de l'Agriculture et de la Pêche to E.S.) .

Unit Recording and tracking

Signals from the electrodes were amplified 10,000 times, band-pass filtered between 0.3 and 10 kHz, by Neuralynx amplifiers (Bozeman, MO) and processed with animals' position signals by Datawave SciWorks acquisition software (Longmont, CO). Waveforms of identified units were sampled at 32 kHz and stored in a computer. A single LED positioned on the headstage allowed position tracking (at 50 Hz) and was detected in a grid of 256 x 256 square regions (pixels) that was reduced at analysis stage to a grid of 32 x 32 pixels, 25 mm on a side.

Apparatus

Familiar environment. Before implantation, mice were exposed daily for 15 min during 3 weeks to a square enclosure (40 x 40 x 35 cm high, with light gray-painted wooden walls and gray textured linoleum floor) containing a black cue card (40 cm), a single object (white plastic bottle, 11 cm high) placed in front of the cue card. The apparatus was placed on an elevated platform (90 cm high) surrounded by black curtains in a dimly lit room (four symmetrically-placed 25 W bulbs) with constant noise background. Electrode screening was performed as the animals were running in the square.

Novel environment. After two initial recording sessions, the mice were exposed to a "novel environment" that replaced the "familiar environment". Two novel environments were used. One was a circular enclosure (45 cm in diameter with a 35 cm high black plastic wall and a black textured linoleum floor) containing a light gray cue card (40 cm) and an object (blue cactus-shaped plastic object, 10 cm high) placed in front of the cue card. The other was a triangular enclosure (61 cm on a side with a 35 cm high brown wooden wall and a brown textured linoleum floor) containing a white cue card (40 cm) on a side and an object (green plastic cylinder, 10 cm high) placed in front of the cue card. All 3 environments had similar floor area ($\simeq 1600 \text{ cm}^2$).

Recording protocol

During recordings, mice were submitted to a sequence of 7 15-min recording sessions (Figure 1A). Sessions 1 to 5 were carried out on day 1 and sessions 6 and 7, 24 h later (day 2). We asked the following questions: 1) Are place fields stable in constant conditions (mice were exposed to the square in sessions 1 and 2) ?, 2) Are place cells able to form a new representation (mice were exposed to the circle in session 3) ?, 3) Are place cells able to maintain short term stability of the new representation (after re-exposition to the square in session 4, mice were, 1 hour later, placed in the circle in session 5) ?, and 4) Are place cells able to maintain long-term stability of the new representation (After a 24-h delay, mice were exposed to the square in session 6 and exposed to the circle in session 7) ? Except for S4-S5 and S5-S6 intervals, 5-min intersession intervals were used during which mice were put back in their home cage. The apparatus was wiped during each session. As presented in the results section an additional experiment involved exposure to a second novel environment, a triangular arena. The recording protocol was strictly similar to the circle-to-square substitution protocol. After the recording sessions, the electrodes were moved to isolate new sets of cells and the next day, a new recording sequence was performed.

Data analysis.

Spikes from single hippocampal cells and interneurons were identified and isolated using Datawave SciWorks cluster cutting software. Clustering on each tetrode was based on all possible X-Y combinations of five parameters including peak time, peak amplitude, spike height, valley time, and A/D values at a selected time point of the waveform. The cluster boundaries established for the first

session were used for subsequent sessions in the sequence. Hippocampal cells and interneurons were distinguished by their firing pattern (i.e. complex spike), spike shape, average firing rate, and spatial firing pattern. Only cells with clear location-specific activity were included in the data set. The overall positional firing rate distributions were then calculated. The total time the LED was detected (dwell time) and the total number of spikes in each pixel were accumulated for the session duration (15 min). Dividing the total number of spikes by the dwell time in each pixel allowed the construction of a firing rate map for the session to visualize the positional firing distribution (Muller and Kubie, 1987). In such maps, pixels that were not visited by the rat are displayed as white and pixels that were visited, but in which no spike occurred during the session, are displayed as yellow. The highest firing rate is coded as purple and intermediate rates are coded as blue, green, red, and orange pixels from high to low. The values used as boundaries between categories were determined for the first (standard) session and applied to subsequent sessions of a recording sequence to allow for comparison between these sessions for a given cell. A place field was defined as a set of at least nine contiguous pixels with a firing rate above the mean firing rate (i.e. above the total number of spikes divided by the session duration). In addition to the qualitative description of place cell firing provided by examination of the maps, several numerical measures were used to describe the positional firing patterns. (1) In-field mean firing rate was the total number of spikes emitted by the cell while the rat was in the place field divided by the total time spent in the field, (2) In-field peak firing rate, (3) Spatial coherence was a computed autocorrelation between the rate for each pixel and the average rate of the eight neighboring pixels. It measures the local smoothness of firing rate contours and is a way to quantify the strength of spatial firing for a cell (Muller and Kubie, 1989), and (4) Information content measured the amount of information (in bits) conveyed about spatial location by a single action potential emitted by a single cell (Markus et al., 1994) and was defined by the formula : $I = \sum_i (\lambda_i / \lambda) \times \log_2 (\lambda_i / \lambda) \times P_i$ where λ_i is the mean firing rate in each pixel, λ is the overall mean firing rate, and P_i is the probability of the animal to be in pixel i (i.e. dwelling time in pixel/total dwelling time). The minimal value of positional information content is 0 for a cell which does not provide any information about location. To estimate the stability of place fields between sessions and in particular, between familiar and novel environments, we calculated pixel-by-pixel cross-correlations between pairs of firing rate arrays. This correlation was used as a measure of place field similarity, a high correlation indicating a high similarity between place fields (similarity score, see Kentros et al., 1998; Paz-Villagran *et al.*,

2004). In contrast, low correlation may indicate that a place field displayed an angular shift between the two sessions. To examine this hypothesis, we visually examined the rate maps and calculated a cross-correlation as the firing rate array of the first session was rotated in 6° steps relative to the firing rate array of the second session. The angle associated with the highest correlation (R_{Max}) was taken as the rotation angle of the place field between the two sessions. To normalize the distribution, each R_{Max} value was transformed into a Z_{Max} score. These Z_{Max} scores were used for calculation of the means and standard errors and for statistical analyzes.

RESULTS

A total of 274 pyramidal cells with complex-spike firing recorded from CA1 were included in the data set. Ninety four cells were recorded from 7 WT mice and 180 from 7 Zif268 mutant mice. Among the Zif268 mice, 6 were homozygous mutants (Zif268 $-/-$) and one mouse was a heterozygous mutant (Zif268 $+/-$). Thirty place cells were recorded in the latter mouse. We did not find any evidence of different responses of place cells in Zif268 $+/-$ mouse as compared to Zif268 $-/-$ mice. Thus, cells of all Zif268 mice were pooled for analysis. We were not able to record a complete sequence of sessions for all cells. It happened that some cells stopped or started to fire in the course of the sequence, as a result of the environmental manipulations. Because data analysis was based on a comparison between pairs of sessions, we specifically considered all the cells that were recorded in the two sessions of each pair of interest.

Place field stability in the familiar environment. Comparison of firing parameters between the two groups in S1 did not reveal alterations in Zif268 mice (mean firing rate, Zif268: 1.478 Hz \pm 0.252, WT: 1.711 Hz \pm 0.182; t test $p = 0.53$; In-field mean firing rate, Zif268: 3.661 Hz \pm 0.363, WT: 4.461 Hz \pm 0.353; t test $p = 0.16$; In-field peak firing rate, Zif268: 7.296 Hz \pm 0.628, WT: 9.169 Hz \pm 0.801; t test $p = 0.07$; Field size, Zif268: 51.11 pixels \pm 2.62, WT: 60.6 pixels \pm 5.02; t test $p = 0.07$; Coherence, Zif268: 0.517 \pm 0.010, WT: 0.513 \pm 0.013; t test $p = 0.86$; and Information content, Zif268: 0.956 \pm 0.038, WT: 0.808 \pm 0.042; t test $p = 0.017$). We examined the between-session stability of place fields in the familiar environment (S1-S2). Both WT and Zif268 mice maintained stable place fields between S1 and S2. Representative examples of S1/S2 rate maps in the two groups are shown in Figure 1B. The distribution of similarity scores showed a similar profile and high values in the two groups (Figure

1C) . Between group comparisons of the mean similarity scores did not reveal any difference (Zif268: 0.408, WT: 0.435, t test $t(272) = 0.81$, $p = 0.42$).

Figure 1

Exposure to the novel environment. Following S2, the familiar environment (square) was replaced by the novel environment (circle). This manipulation resulted in formation of a new spatial firing pattern (remapping) in both WT and Zif268 mice. In WT mice, 6 cells (6.4 %) stopped firing and 2 cells (2.1 %) started firing and in Zif268 mice, 27 cells (15 %) stopped firing and 6 cells (3.3 %) started firing. In the remaining cells (WT, $n = 88$; Zif268, $n = 153$), place fields shifted to a different location. This was confirmed by a much lower similarity score in S2/S3 than in S1/S2 in the two groups (paired t test, WT: $t(87) = 12.16$, $p < 0.0001$; Zif268: $t(152) = 16.51$, $p < 0.0001$). There was no difference between groups (non paired t tests, $t(239) = -0.70$, $p = 0.49$). Thus, the results show that place cells in Zif 268 mice displayed remapping as in WT mice. The distribution of similarity scores for the two groups is shown in Figure 2A. Figure 2B shows examples of rate maps in S2 and S3 for WT and Zif268 mice.

Figure 2

To examine whether WT and Zif268 mice differed in the time-course of remapping, we looked at the similarity scores for the place cells that were recorded in the first sequence, i.e. during the first exposure to the novel environment. Figure 3A shows S1/S2 and S2/S3 similarity scores in the first sequence for the two groups. A factorial ANOVA (group x novelty) revealed no effect of group ($F(1,96) = 0.35$, $p = 0.55$), a significant effect of novelty ($F(1,96) = 51.02$, $p < 0.0001$) and no interaction ($F(1,96) = 0.93$, $p = 0.34$) Newman-Keuls tests indicated that S1/S2 and S2/S3 similarity scores did not differ between groups (all $ps > 0.05$) but that S2/S3 similarity scores were much lower than S1/S2 similarity scores in the WT and Zif268 mice ($p = 0.000135$ and $p = 0.000140$, respectively). These

results show that remapping occurred as soon as the first sequence in both WT and Zif268 mice.

Figure 3

We also examined possible qualitative difference in remapping between Zif268 and WT mice. Figure 3B shows the distribution of the rotation angle corresponding to the highest correlation (Z_{Max}) between two rate maps for S1/S2 and S2/S3. In both groups, the rotation angles for S1/S2 Z_{Max} were clearly concentrated around the 0° angle, therefore confirming the stability of place fields in the familiar environment. The distribution of the angles corresponding to S2/S3 Z_{Max} showed a similar profile, indicating a lack of a systematic rotation bias in WT and Zif268 mice. Thus, our results demonstrate that the formation of a new representation by place cells and its stability in constant conditions is not Zif268-dependent.

Re-exposure to the familiar environment. Following exposure to the circle, we examined the specificity of the new representation by putting back the mice into the familiar environment, a manipulation that usually produces re-activation of the familiar representation. Such outcome was observed in WT mice but not in Zif268 mice. In WT mice, all cells re-activated the fields corresponding to the representation of the square. Similarity scores for S2/S4 and S1/S2 in WT mice were not different ($t(87) = 1.95$, $p > 0.05$). Surprisingly, in Zif268 mice, a large number of place fields did not re-activate the representation of the square but shifted to a different location as indicated by a similarity score lower for S2/S4 than for S1/S2 ($t(152) = 4.181$, $p < 0.001$) and by a similarity score for S2/S4 in Zif268 mice lower than for S2/S4 in WT mice ($t(87) = 2.57$, $p < 0.05$). More specifically, we looked at the time-course of remapping occurrence by analyzing the S2/S4 similarity scores in the first four sequences. As shown in Figure 4A, remapping was observed in the first two sequences only (S2/S4 similarity scores, unpaired t tests: first sequence, WT > Zif268, $t(52) = 2.54$, $p < 0.05$; second sequence, WT > Zif268, $t(52) = 2.59$, $p < 0.05$; third and fourth sequences, $p > 0.05$). Figure 4B shows the distribution of the rotation angles pooled for the first two sequences showing that many place fields in Zif268 clearly departed from the 0° angle. A Watson's U^2 test for circular data revealed that the distribution of

rotation angles in Zif268 differed from that in WT mice ($U^2 = 0,655$, $p < 0.001$).

Figure 4

Fields with a rotation angle exceeding $0^\circ \pm 30^\circ$ were considered as shifted fields. Accordingly, taking into account the first two sequences (Zif268: $n = 63$, WT: $n = 50$), we found that 42.9 % (26/63) of cells in Zif268 mice had fields that shifted during re-exposition to the familiar environment (14,8 % (6/50) in WT mice, chi square test, $\chi^2 = 10.24$, $p < 0.01$). Interestingly, visual examination of the rate maps of the 26 cells that remapped in Zif268 suggested a particular kind of remapping called rotational remapping in which only the angular position of field location is modified (Muller and Kubie, 1987). This was further supported by the fact that $S2/S4 Z_{Max}$ was similar to $S1/S2$ similarity score (paired t test, $t(25) = 0,822$, $p > 0.05$), thus indicating a fairly good superimposition of the fields after simple rotation of the maps. Note however that the firing rate in S4 was also affected by the change (high-low/high+low score: 0.26 ± 0.04 , McHugh et al., 2007, one sample t test, $t(25) = 2.80$; $p < 0.01$). The evaluation in terms of cells however could be biased by the fact that large ensemble of cells usually display coherent activity. We therefore examined the rotational remapping in terms of sequences for Zif268 mice and found that 3 sequences (i.e. 3 mice) out of 7 displayed a rotational remapping (Figure 5A). Figure 5B displays examples of rate maps in the two groups and illustrates the rotational remapping effect in Zif268 mice. Overall, the results of the re-exposure to the familiar environment show that a large proportion of cells in Zif268 mice did not re-activate the familiar representation. However, that these cells displayed rotational remapping rather suggests a disorientation of the initial representation rather than the formation of a totally new representation.

Figure 5

Although this effect disappeared after the second sequence, we examined whether it would re-appear

whenever the animal is exposed to a novel environment. To do this, animals were exposed for one or two successive sequences to a novel, triangular environment. We recorded a total of 45 place cells (19 cells in 2 WT mice and 26 cells in 3 Zif268 mice) in this situation. In the two groups, S1/S3 similarity scores for the two sequences were high indicating stable place fields (similarity score, WT: 0.43 ± 0.06 ; Zif268: 0.41 ± 0.05 , unpaired t test: $p > 0.05$). Exposure to the triangle induced a remapping in WT (S2/S3 similarity score: 0.0 ± 0.03) and Zif (S2/S3 similarity score: 0.02 ± 0.03). When re-exposed to the familiar environment, all cells re-activated the fields corresponding to the representation of the square in the two groups (S2/S4 similarity score, WT: 0.44 ± 0.05 ; Zif268: 0.36 ± 0.04 , unpaired t tests, $p > 0.05$). Figure 5B shows examples of rate maps in WT and Zif268 mice. Thus, these results show that the remapping seen during re-exposure to the familiar environment is not a systematic response to any novel environment. Instead, it may reflect a transitory interference between the new representation and the familiar representation, suggesting an impairment of long-term stability of the familiar representation.

Figure 6

Short term stability of place fields in the novel environment. Following re-exposure to the familiar environment (S4), short term maintenance of place cell firing in the novel environment (circle) was tested after a 1h delay (S5). Figure 6A shows that the distribution profiles of S3/S5 similarity scores for WT and Zif268 mice for all expositions were noticeably similar. Between group comparisons of the similarity scores did not reveal any difference when considering all or only the first two sequences (Zif268: 0.296, WT: 0.318, unpaired t test $t(211) = 0.54$, $p = 0.59$, Zif268: 0.248, WT: 0.332, unpaired t test $t(101) = 1.72$, $p = 0.088$, respectively). This shows that place fields were stable between S3 and S5 therefore indicating that the representation of the novel environment was not degraded over short delays. Figure 6B shows examples of rate maps for the two groups.

Long term stability of place fields in the novel environment. Twenty four hours after S5, we examined whether appropriate representations could be reinstated when the rats were re-exposed to the familiar (S6) and novel (S7) environments. A number of cells that "disappeared" between day 1 and day 2

were not taken into account for this analysis. Place field stability was assessed by calculating S1/S6 similarity scores for the familiar environment (square) and S5/S7 similarity scores for the novel environment (circle). S1/S6 similarity scores were not different between WT and Zif268 mice when including all sequences (WT: 0.31, Zif268: 0.27, unpaired t-test, $t(235) = 0.99$, $p = 0.32$) or the first two sequences (WT: 0.25, Zif268: 0.22, unpaired t-test, $t(87) = 0.60$, $p = 0.55$), therefore suggesting similar stability in the familiar environment for the two groups (Figure 7A). Note however, that, considering only the first two sequences, the similarity score was weaker for S1/S6 than for S1/S2 in the two groups for the familiar environment (paired t tests, WT: $t(39) = 11.00$, $p < 0.001$; Zif268: $t(48) = 5.48$, $p < 0.001$). One possible reason is that spatial selectivity, assessed by the information content, was diminished in S6 relative to S1 (information content, WT: $t(39) = 2.16$, $p < 0.05$; Zif268: $t(48) = 2.15$, $p < 0.05$). We also examined the possibility that, in Zif268, the instability found in the familiar environment in S4 may have some long lasting effect and affect field stability in S6. To address this possibility we calculated the S1/S6 similarity scores separately for cells that had stable or non stable fields in S4 in the two first sequences in Zif268 mice. A comparison between the two however did not reveal any difference (unpaired t test, $t(46) = 0.403$, $p > 0.05$). Thus, while it remains unclear why place cells activity was degraded between S1 and S6, it was seen in both WT and Zif268 mice, therefore indicating no specific effect of Zif268 gene deletion.

Figure 7

In contrast, S5/S7 similarity scores were much lower in Zif268 mice than in WT mice in the first two sequences (unpaired t test, $t(75) = 3.10$, $p < 0.01$) (Figure 7A). This difference was not seen in next two sequences, therefore indicating a temporary impairment. In Zif268 they were also lower than S3/S5 similarity score whereas in WT there was no difference (paired t tests, WT: $t(31) = 1.13$, $p > 0.05$, Zif268: $t(32) = 3.51$, $p = 0.0013$). Again, no difference between cells that have shown instable or have shown stable place fields in S4 was found (t test, $t(33) = 0.47$; $p > 0.05$), therefore allowing us to rule out the hypothesis of an interference between instability in S4 and instability in S7. Figure 7B displays examples of rate maps in S7 for the two groups. All together, these results show that place

cells in Zif268 mice were not able to reactivate correctly the representation corresponding to the novel environment, thus suggesting an effect of Zif268 deletion in long term maintenance of a spatial representation.

DISCUSSION

The present study is the first investigation on the contribution of an immediate early gene, Zif268, that has been shown to be crucial for late LTP and long term memory (Jones et al., 2001; Bozon et al., 2002), to the expression of spatial memory by hippocampal place cells. We recorded CA1 complex-spike pyramidal neurons in mutant mice lacking Zif268 and examined the capacity of the place cell system (1) to maintain a stable representation of a familiar environment, (2) to form a representation of a novel environment and (3) to re-activate this representation after a short (1h) or long (24h) delay.

A first finding is that Zif268 deletion did not prevent rapid formation of a new representation. When exposed to the novel environment (the circle), place cells in Zif268 mice readily showed remapping and formed a new representation, differing from the familiar square representation. At this point, The results suggested normal place cell functioning in mutant mice but we surprisingly found that when re-exposed to the familiar environment, the corresponding square representation was not re-activated as in WT mice. Instead, a large percentage of place fields underwent rotational remapping. Thus, it seems that the formation of the new representation interfered with the re-activation of the familiar representation. However, that fields switched to a different angular position in the arena but maintained

their radial position rather indicates an incorrect orientation of the square map (associated with rate change) rather than the creation of a totally new representation. To our knowledge such an interference effect has never been found as a result of cue manipulation, lesion, or pharmacological treatment and may reveal a specific contribution of Zif268 gene to place cell functioning. A possible interpretation is that the representation of the square may not have been fully stabilized in the CA1 place cell network in spite of extensive training in this environment. It has been proposed that spatial representations are implemented in attractor networks that correspond to cell assemblies of strongly connected neurons (Leutgeb et al, 2005). Attractor networks have properties such as pattern separation and pattern completion that allow the brain to maintain stable representations and resolve pattern interference problems in spite of environmental changes. In this perspective, the interference effect suggests an implication of Zif268 in the synaptic plasticity mechanisms underlying the

strengthening of cell assemblies during learning and therefore in the formation and maintenance of long term memory. Interestingly, this effect was transitory since it was observed for the first two sequences and disappeared afterwards. In addition, it could not be reproduced when the animal was exposed to a second novel environment as if a few exposures to the novel environment had produced a persistent stabilizing effect on the whole hippocampal network.

A second finding is that Zif268 deletion impaired re-activation of the novel environment representation after a long delay (24 h) but not after a shorter delay (1 h). Although place cell activity was degraded for the familiar environment in both Zif268 and WT mice, we found a greater change in Zif268 mice relative to WT mice for the novel environment. Zif268 were impaired in re-activating the representation formed in the circle. This effect in Zif268 mice did not result from the stability deficit observed during re-exposure to the familiar environment (session 4) however.

Thus, our results provide evidence that Zif268 is involved in long term but not short term maintenance of spatial representations in hippocampal place cells. They strongly parallel recent data showing a disruption of late LTP maintenance and long term memory in Zif268 mutant mice (Jones et al., 2001) and support the notion that Zif268 is involved in both LTP and expression of spatial memory by place cells. This is consistent with a number of studies in which manipulations of specific components of the intracellular signaling pathways underlying LTP induction and maintenance were found to affect place cell firing. Mice with mutated CAMKII displayed deficient LTP, impaired spatial learning (Silva et al., 1992a, 1992b) and had degraded and unstable place fields (Rotenberg et al., 1996; Cho et al., 1998). Interestingly, blockade of NMDA receptors by CPP (\pm)-3-(2carboxypiperazine-4-yl)-propyl-1-phosphonic acid) and reduction of forebrain protein kinase A in mutant R(AB) mice had effects that remarkably resemble those found in the present Zif268 study. In each manipulations, the formation of a representation in a novel environment (remapping) was not prevented and the new representation was stable after a 1h delay but not re-activated 24 h later (NMDA: Kentros et al., 1998; PKA: Rotenberg et al., 2000). Thus, our data support the idea that long-term stability of place cell representations results from activation of NMDA-dependent signaling cascades involving PKA and expression of Zif268 gene and are consistent with studies showing that induction of Zif268 depends on activation of PKA (Ginty et al. 1991; Simpson and Morris, 1995). It is then plausible that long-term stability of place cell representations involves intracellular signaling pathways that are known to be responsible for LTP maintenance (e.g. Lynch, 2004 for a review). As shown in recent studies, NMDA receptor-dependent activation of PKA (and other kinases such as PKC and CaMkII) may be linked to

Zif268 transcriptional regulation through activation of the mitogen-activated protein kinase (MAPK/ERK)-cAMP response element-binding protein (CREB) pathway (Davis et al., 2000). Both MAPK/ERK and CREB have been shown to play a role in long-term but not short term recognition memory (Bozon et al., 2003). Altogether, these data strongly suggest that the synaptic plasticity involved in stabilization of a novel hippocampal map shares common molecular mechanisms with synaptic plasticity involved in LTP. Interestingly, an effect of Zif268 gene deletion that has not been found in the NMDA and PKA studies is that formation of a representation of the novel environment interfered with the representation of the familiar environment therefore suggesting a lower stability of the familiar representation. Thus, it is possible that Zif268 is important for long lasting stabilization of place cell representations even after repeated, extensive exposure to the environment. Considering the potential link between place cell firing, LTP and memory performance, such long-lasting effect may co-occur with persistent memory deficits. Inconsistent with this hypothesis, Bozon and co-workers did not find any recognition memory deficits after a 8-session over-training in a new environment (Bozon et al., 2003). However, because such instability was transient, it may well have very limited or no consequences on memory performance or spatial behavior.

It was a general feature that the deficits in place field stability were observed only in the first two but not in later sequences. This particular time-course is suggestive of a compensatory process that would overcome the lack of Zif268 and restore a stable memory state. A possible mechanism refers to the activation of other members of the Egr family that are characterized by high homology with Zif268 and may play such a role. As suggested by Bozon et al. (2003), Krox 20 is a possible candidate to compensate for the lack of Zif268 during learning in condition of over training or, like in the present study, extensive exposure to the environment. The Krox 20 protein shows prolonged high levels 24 h following LTP induction and requires stronger cell stimulation to be activated (Williams et al., 1995). It is therefore possible that Krox 20 would be activated as a result of repeated exposure to the novel environment and lately compensate for the Zif268 gene deficiency to stabilize place cell representation over time.

In agreement with previous studies using Zif268 mice, our results strongly support the hypothesis of a relationship between Zif268, LTP and the expression of spatial memory by place cells. However, because place cells were recorded in CA1, it is now necessary to demonstrate that place cell impairment is associated with a LTP deficiency in CA1 in Zif268 mutant mice. Further work may also be necessary to clarify the issue of a subfield-specific correlation between LTP and Zif268 gene in the

hippocampus. Indeed, previous studies have shown diverging results. For example, a lack of modulation of Zif268 following LTP in CA1 was found in anesthetized rats (French et al., 2001) whereas an increase of Zif268 expression was found in the CA1 slice (Mackler et al., 1992; Roberts et al., 1996). Thus, it would be interesting to measure both LTP and Zif268 expression in CA1 in WT mice and examine LTP in CA1 in Zif268 mutant mice.

Flexibility is a major characteristic of the place cell system involving a variety of synaptic plasticity-based processes that allows both rapid formation of new representation and long-lasting maintenance of familiar representation. Long-term and short-term plasticity are mediated by different molecular mechanisms. Our results add further evidence to the hypothesis that long-term maintenance of spatial representation in the hippocampus requires LTP-like persistent synaptic changes based on NMDA activation (Shapiro, 2001) and demonstrate the importance of Zif268 expression. As an ubiquitous gene in the brain, Zif268 appears now as a key element of a universal molecular pathway responsible for long term memory formation.

Acknowledgments

The authors thank P. Charnay for providing the Zif268 mice. This work was supported by french Ministry of Research (A.C.I. "Neurosciences Intégratives et Computationnelles" n° NIC0027) and Fondation pour la Recherche Médicale.

References

- Abraham, W.C., Dragunow, M., and Tate, W.P. (1991). The role of immediate early genes in the stabilization of long-term potentiation. *Mol. Neurobiol.* 5, 297-314.
- Bozon, B., Davis, S., and Laroche, S. (2002). Regulated transcription of the immediate-early gene Zif268: mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus* 12, 570-577.
- Cho, Y.H., Giese, K.P., Tanila, H., Silva, A.J., and Eichenbaum, H. (1998). Abnormal hippocampal spatial representations in α CaMKII^{T286A} and CREB $\alpha\Delta$ - mice. *Science*, 279, 867869.
- Davis, S., Vanhoutte, P., Pagès, C., Caboche, J., and Laroche, S. (2000). The MAP/ERK cascade targets both Elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus *in Vivo*. *J. Neurosci.* 20, 4563-4572.

- Dragoi, G., Harris, K.D., and Buzsàki, G. (2003). Place representation within hippocampal networks is modified by long-term potentiation. *Neuron* 39, 843-853.
- Abraham, W.C., Mason, S.E., Demmer, J., Williams, J.M., Richardson, C.L., Tate, W.P., Lawlor, P.A., Dragunow, M. (1993). Correlations between immediate early gene induction and persistence of LTP. *Neuroscience*, 56, 717-727.
- Cole, A.J., Saffen, D.W., Baraban, J.M., Worley, P.F. (1989). Rapid increase of an immediate early gene messenger RNA in hippocampal neurons by synaptic NMDA receptor activation. *Nature*, 340, 474-476.
- Davis, S., Bozon, B., and Laroche, S. (2003). How necessary is the activation of the immediate early gene *c-fos* in synaptic plasticity and learning. *Behav Brain Res.* 142, 17-30.
- Dragoi, G., Harris, K.D., and Buzsaki, G. (2003). Place representation within hippocampal networks is modified by long-term potentiation. *Neuron*, 39, 843-853.
- Ekstrom, A.D., Meltzer J., McNaughton, B.L., and Barnes, C.A. (2001). NMDA receptor antagonism blocks experience-dependent expansion of hippocampal "place fields". *Neuron* 31, 631-638.
- Ginty, D.D.; Glowacka, D.; Bader, D.S.; Hidaka, H., and Wagner, J.A. (1991). Induction of immediate early genes by Ca^{2+} influx requires cAMP-dependent protein kinase in PC12 cells. *J. Biol. Chem.* 266, 17454-17458.
- Jones, M.W., Errington, M.L., French, P.J., Fine, A., Bliss, T.V.P., Garel, S., Charnay P., Bozon, B., Laroche, S., and Davis, S. (2001). A requirement for the immediate early gene *Zif268* in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci.* 4, 289-296.
- Kentros, C., Hargreaves, E., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., Shapiro, M., and Muller, R.U. (1998). Abolition of long-term stability of new hippocampal place cell maps by NMDA receptor blockade. *Science* 280, 2121-2126.
- Knapska, E., and Kaczmarek, L. (2004). A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain. *Prog. Neurobiol.* 74, 183-211.
- Leutgeb, S, Leutgeb, J.K., Moser, and M.B., Moser, E.I. (2005). Place cells, spatial maps and the population code for memory. *Curr. Opin. Neurobiol.* 15, 738-46
- Lever, L., Wills, T., Cacucci, F., Burgess, N., and O'Keefe, J. (2002). Long-term plasticity in hippocampal place-cell representation of environmental geometry. *Nature* 416, 90-94.
- Lynch, M.A. (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiol. Rev.* 84, 87-136.
- Markus, E.J., Barnes, C.A., McNaughton, B.L., Gladden, V.L., Skaggs, W.E. (1994). Spatial

information content and reliability of hippocampal neurons: effects of visual input. *Hippocampus* 4, 410-421.

Mackler, S.A.; Brooks, B.P., and Eberwine, J.H. (1992). Stimulus-induced coordinate changes in mRNA abundance in single postsynaptic hippocampal CA1 neurons. *Neuron* 9, 539-548.

Muller, RU, and Kubie, J.L. (1987). The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. *J. Neurosci.* 7, 1951-1968.

Muller, RU, and Kubie, J.L. (1989). The firing of hippocampal place cells predicts the future position of freely moving rats. *J Neurosci.* 12, 4101-4110.

O'Keefe, J., and Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Res.* 34, 171-175.

Paz-Villagr n, V., Save, E., and Poucet, B. (2004). Independent coding of connected environments by place cells. *Eur. J. Neurosci.* 20, 1379-1390.

Roberts, L.A.; Higgins, M.J.; O'Shaughnessy, C.T.; Stone, T.W., and Morris, B.J. (1996). Changes in hippocampal gene expression associated with the induction of long-term potentiation. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 42, 123-127.

Rotenberg, A., Mayford, M., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., and Muller, R.U. (1996). Mice expressing activated CaMKII lack low frequency LTP and do not form stable place cells in the CA1 region of the hippocampus. *Cell* 87, 1351-1361.

Rotenberg, A., Abel, T., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., and Muller, R.U. (2000). Parallel instabilities of long-term potentiation, place cells, and learning caused by decreased protein kinase A activity. *J. Neurosci.* 20, 8096-8102.

Shapiro, M.S. (2001). Plasticity, hippocampal place cells, and cognitive maps. *Arch. Neurol.* 58, 874-881.

Silva, A.J., Stevens, C.F., Tonegawa, S., and Wang, Y. (1992a). Deficient hippocampal long-term potentiation in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257, 201-206.

Silva, A.J., Paylor, R., Wehner, J.R., and Tonegawa, S. (1992a). Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257, 206-211.

Simpson, C.S., and Morris, B.J. (1995). Induction of c-fos and zif/268 gene expression in rat striatal neurons, following stimulation of D1-like dopamine receptors, involves protein kinase A and protein kinase C. *Neuroscience* 68, 97-106.

Thomson, L.T., and Best, P.J. (1990). Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. *Brain Res.* 509, 299-308.

Topilko, P., Schneider-Manoury, S., Levi, G., Trembleau, A, Gourdji, D., Driancourt, M.A., Rao, C.V., Charnay, P. (1998). Multiple pituitary and ovarian defects in Krox-24 (NGFI-A, Egr-1)-targeted mice. *Mol. Endocrinol.* 12, 107-22.

Williams, J.; Dragunow, M.; Lawlor, P.; Mason, S.; Abraham, W.C.; Leah, J.; Bravo, R.; Demmer, J. , and Tate, W. (1995). Krox20 may play a key role in the stabilization of long-term potentiation. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 28, 87-93.

Wisden, W., Errington, M.L., Williams, S., Dunnett S.B., Waters, C., Hitchcock, D., Evan, D., Bliss, T.V.P., and Hunt, S.P. (1990). Differential expression of immediate early gene in the hippocampus and spinal cord. *Neuron*, 4, 603-614.

Legend

Figure 1: S1/S2. (A) Sequence of recording sessions. Successive sessions are separated by a 5 min delay except S1 and S4 that are separated by a 1 h delay and S5 and S6 separated by a 24 h delay. (B) Examples of rate maps in S1 and S2 for WT and Zif268 mice. Values on the right indicate the peak rate in S1. (C) Distribution of the proportion of place cells as a function of similarity scores (Z) in WT and Zif268. The dotted line indicates threshold for significant correlation at $p = 0.001$ (0.164 for $df \sim 400$).

Figure 2: S2/S3. (A) Distribution of the proportion of place cells as a function of similarity scores (Z) in WT and Zif268 mice. The dotted line indicates threshold for significant correlation at $p = 0.001$ (0.164 for $df \sim 400$). (B) Examples of rate maps in S2 and S3 for WT and Zif268 mice. Exposure to the novel environment (circle) induced remapping in the two groups.

Figure 3: (A) S1/S2 and S2/S3 similarity scores in the first sequence for the two groups. *** indicate significant difference at $p < 0.001$; NS indicate non significant difference (ANOVA and Newman-Keuls post hoc tests). (B) Distribution of rotation angles corresponding to Z_{Max} for S1/S2 and S2/S3 correlations in WT and Zif268 mice.

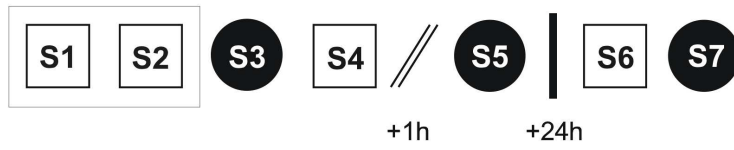
Figure 4: S2/S4 (A) S2/S4 similarity scores in the first four sequences. * indicate significant difference at $p < 0.05$; NS indicate non significant difference ($p > 0.05$) (unpaired student t tests). (B) distribution of the rotation angles corresponding to Z_{Max} pooled for the first two sequences (WT: $n = 50$, mean angle = $0.925^{\circ} \pm 4^{\circ}$, angle concentration = 0.879 ; ZIF268 : $n = 63$, mean angle = $5.9^{\circ} \pm 16$, angle concentration = 0.305).

Figure 5: (A) Proportion of mice that showed rotational remapping in S4 in the first two sequences for WT and Zif268 mice. (B) Examples of sequences of S2, S3, and S4 rate maps in WT and Zif268 mice. Zif268 mice exhibited instable fields in S4 in following exposure to the first novel environment (circle). (C) Examples of sequences of S2, S3, and S4 rate maps in WT and Zif268 mice. Zif268 mice exhibited stable fields in S4 following exposure to the second novel environment (triangle).

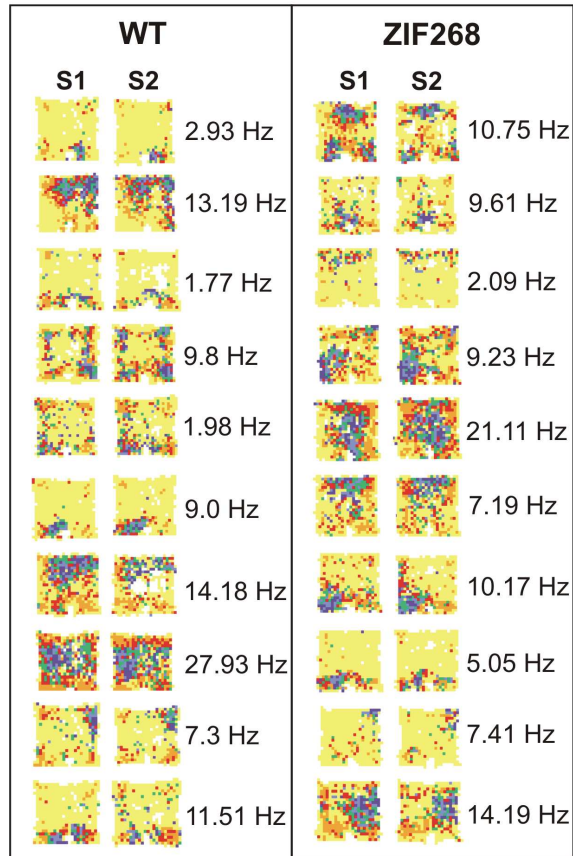
Figure 6: S3/S5 Left: Distribution of S3/S5 similarity scores in WT and Zif268 mice for all expositions. Right: examples of sequences of rate maps from S1 to S5 in WT and Zif268 mice. In both groups, appropriate re-activation of the S3 map was found in S5.

Figure 7: (A) Similarity scores for S1/S6 and S5/S7 correlations for the first two sequences in WT and Zif268 mice. ** indicate significant difference at $p < 0.01$; NS indicate non significant difference ($p > 0.05$) (unpaired student t tests). (B) examples of sequences of S4, S5, S6, and S7 rate maps in WT and Zif268. Zif268 mice exhibited instable re-activation of the circle representation.

A



B



C

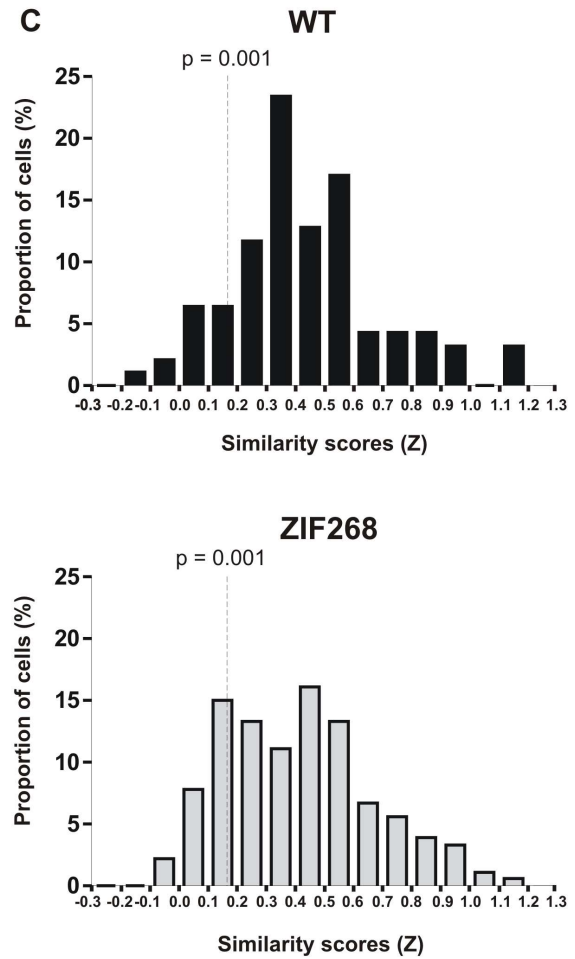
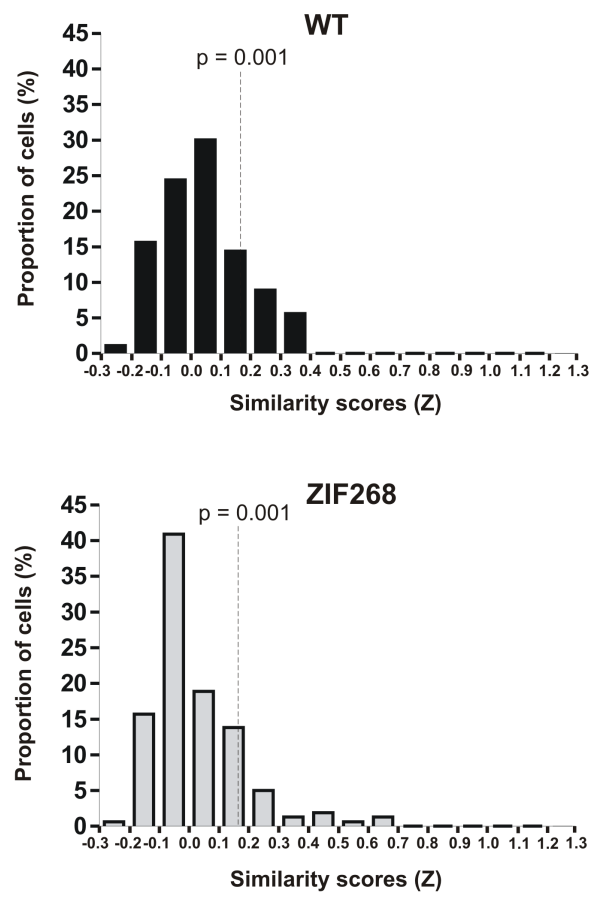


Figure 1

A



B

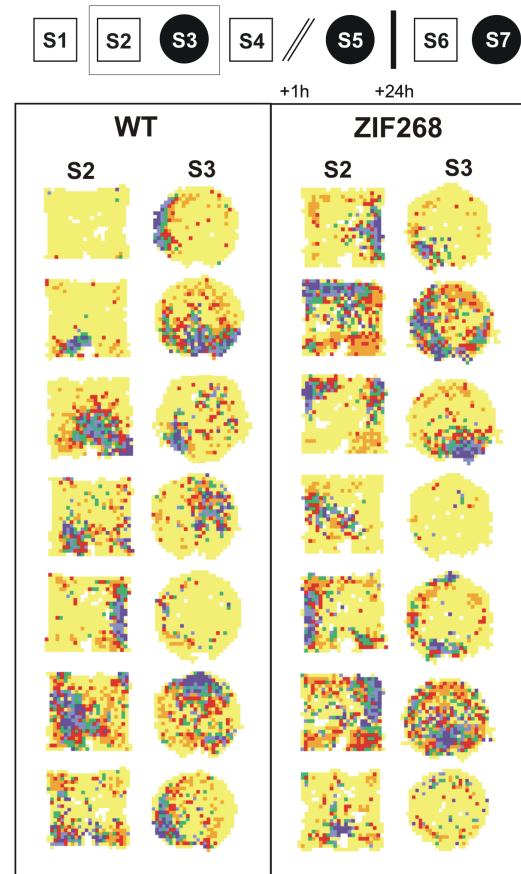


Figure 2

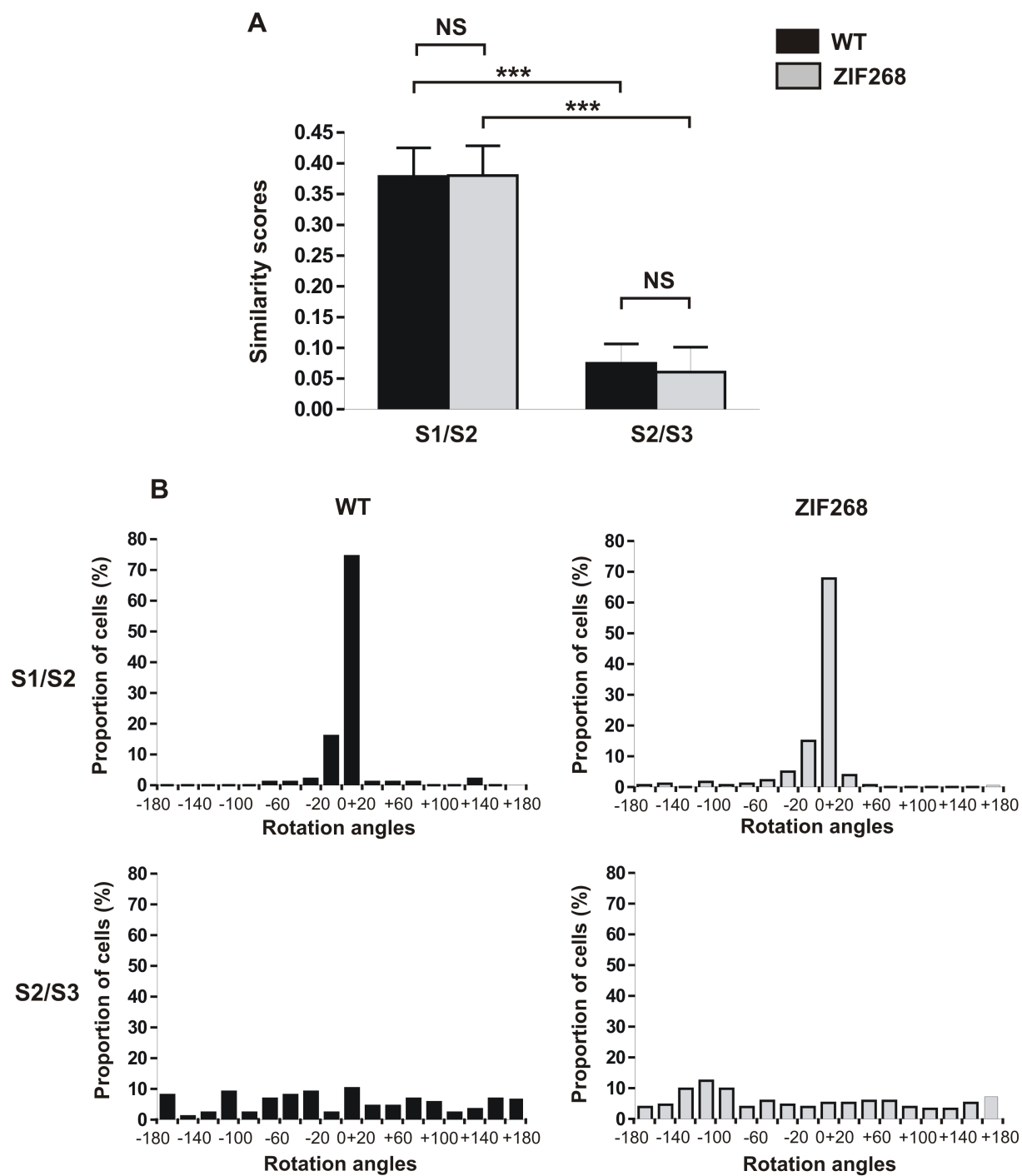


Figure 3

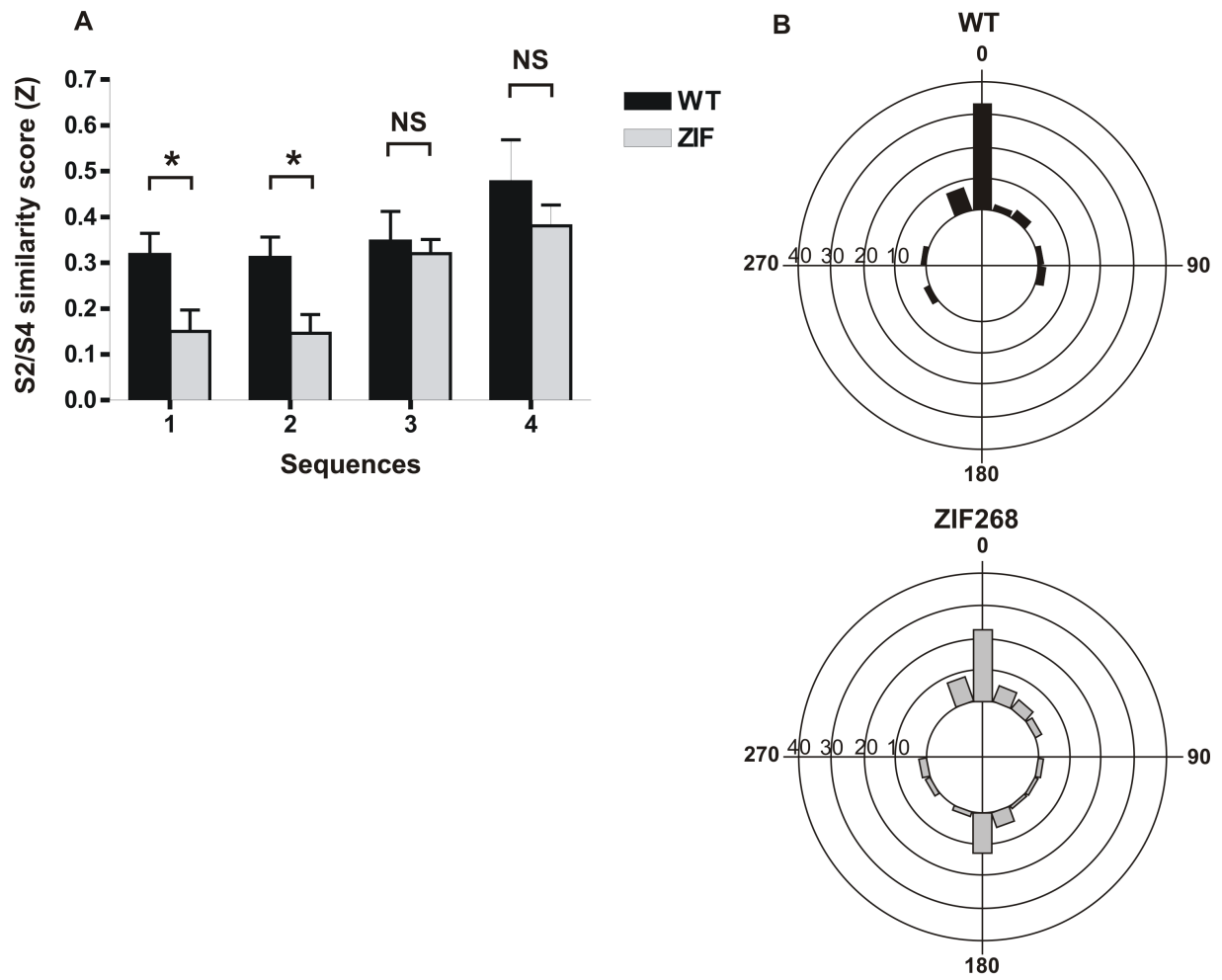


Figure 4

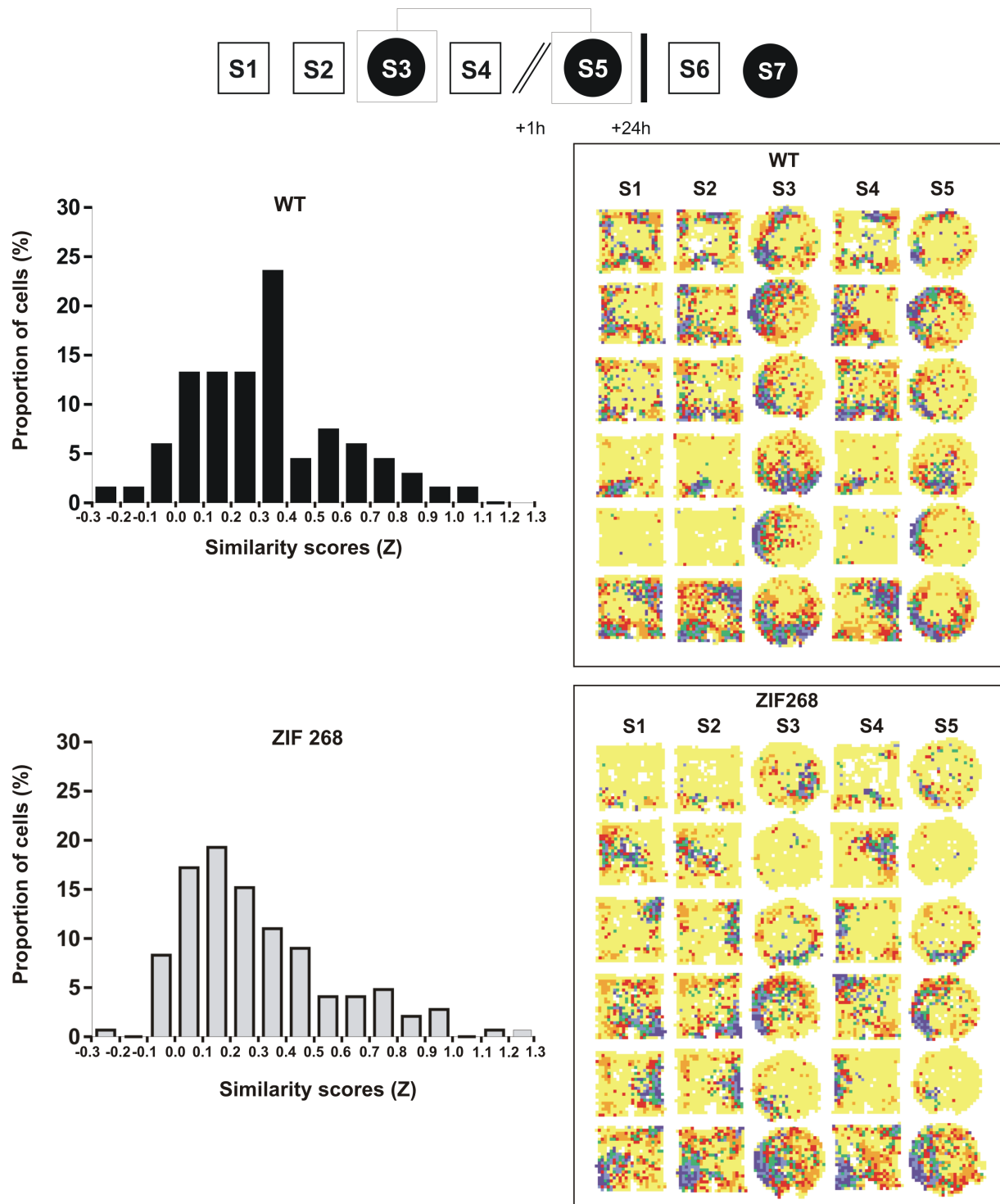
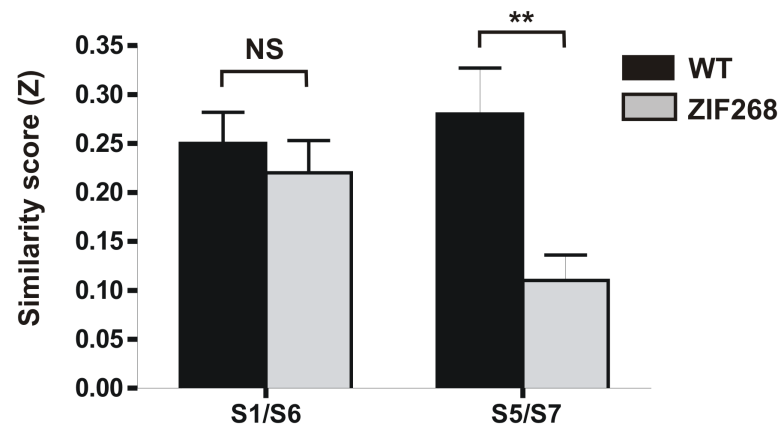


Figure 6

A



B

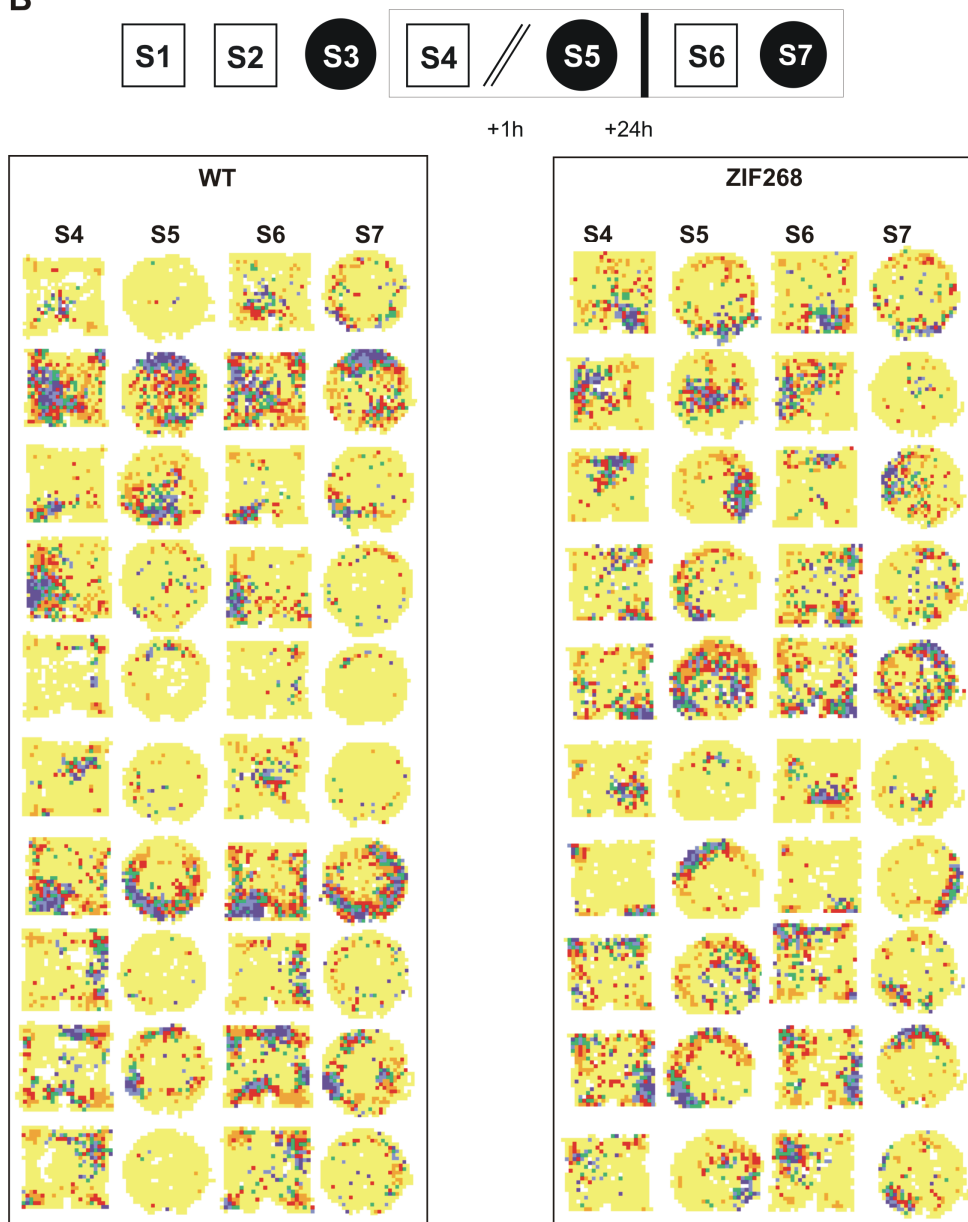


Figure 7

Annexes

Cellules de lieu à travers la phylogénèse

Nous sommes souvent stupéfaits en étudiant les animaux de voir à quel point ils partagent avec l'homme, à des degrés divers, un nombre incroyable de points communs sur le plan cognitif. Ce constat est appuyé par le fait que tous les mammifères, y compris l'homme, respectent le même schéma global d'organisation anatomique : moelle épinière, tronc cérébral, cervelet et hémisphères cérébraux (Swanson, 2000). Chez l'homme et chez le singe, il y a bien entendu une encéphalisation substantielle des fonctions par rapport aux rongeurs, mais les fonctions des différentes aires du système nerveux central ont été très conservées chez toutes les espèces de mammifères. Même si les similitudes phénotypiques paraissent peu évidentes, il existe des similarités génétiques frappantes entre tous les mammifères et en particulier entre les rongeurs et les primates (**figure A1**).

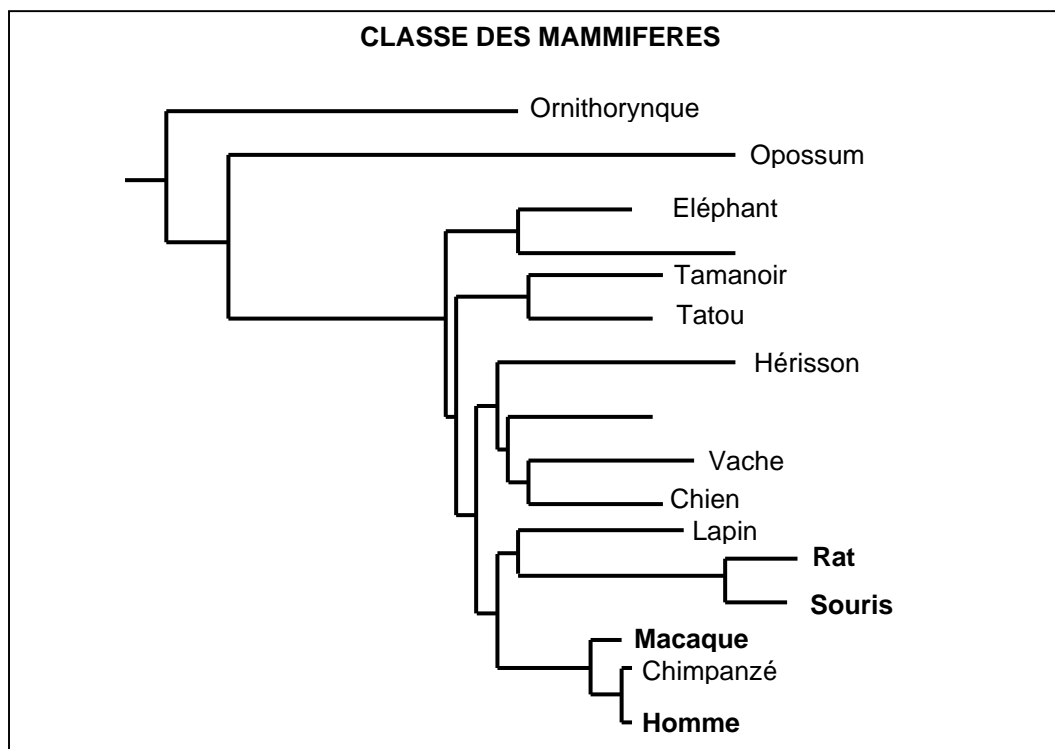


Figure A1. Proximité génétique des primates et des rongeurs. La publication de la séquence génomique du cerveau de l'homme, de la souris et du rat ont permis d'évaluer le degré de similarité entre les espèces. Ces études placent les rongeurs plus proches des primates et des humains que de n'importe quelle autre espèce de mammifère.

Il existe aussi une évolution convergente de certains aspects anatomiques et cognitifs entre les oiseaux et les mammifères (Jarvis et al., 2005 ; Emery et Clayton, 2004). Ces postulats s'appliquent bien entendu aussi à la fonction hippocampique, ce qui fait des modèles animaux un atout majeur pour effectuer

des études invasives anatomiques, physiologiques et comportementales sur l'hippocampe.

Les propriétés spatiales de décharge des neurones hippocampiques chez l'animal éveillé et mobile, ont principalement été étudiées chez les rongeurs. Il est malgré tout particulièrement intéressant de replacer ces études dans un contexte évolutif, en comparant les résultats obtenus chez les rongeurs à ceux obtenus sur d'autres modèles de la phylogénèse des vertébrés. Dans les travaux sur l'oiseau, les pigeons sont contraints d'évoluer dans un environnement bidimensionnel (ailes attachées). Concernant le modèle primate non humain, les individus sont assis sur une chaise mobile avec la tête fixée, ou encore plus récemment évoluent dans un environnement comparable à celui des rongeurs, c'est à dire dans un environnement ouvert dans lequel ils sont libres de leur mouvement. Les hommes ont aussi fait l'objet de recherches dans lesquelles des patients épileptiques doivent résoudre des tâches de navigation virtuelle. Des chercheurs, dans un travail récent, se sont même intéressés aux chiroptères, mammifère volant, dont les capacités d'écholocation ont permis de dissocier les effets de la locomotion et de l'exploration sur la décharge des cellules de lieu et sur les signaux thêta hippocampiques.

Les approches comparatives et évolutives des propriétés de décharge des cellules hippocampiques ont un grand intérêt car elles permettent de mettre en évidence les différences, mais surtout les invariants fonctionnels, s'ils existent, entre les espèces. L'étude de ces invariants au cours de la phylogénèse, qu'ils résultent d'une ascendance commune (homologie probable entre les mammifères) ou d'un processus d'adaptation convergente (analogie entre oiseaux et mammifères) pourrait participer à une compréhension œcuménique de la fonction hippocampique. C'est pourquoi, il m'a paru intéressant de présenter quelques études concernant les enregistrements électrophysiologiques des cellules de la formation hippocampique menées chez d'autres espèces que le rongeur. Tous les taxons n'ont pas été encore étudiés, mais nous disposons aujourd'hui de données représentatives des oiseaux et de plusieurs familles de mammifères (rongeurs, chiroptères, primates : singe et homme). Je présente ci-dessous les données sur l'activité des cellules de la formation hippocampique de ces différentes espèces en fonction de leur ordre d'apparition au cours de la phylogénèse : pigeon, chauve-souris, singe et homme.

1. Pigeon

Chez le pigeon, les cellules enregistrées dans la zone analogue de l'hippocampe de rat ou de singe, au cours de l'exploration d'un labyrinthe en croix avec des récompenses alimentaires en bout de bras, ont des corrélations spatiales plutôt mauvaises. Les champs d'activité sont multiples avec une faible cohérence spatiale et avec une stabilité peu fiable au cours d'une session (15 min) (Siegel, 2005). L'activité de ces cellules ne semble pas avoir de corrélation proprement spatiale, mais cette activité semble plutôt dépendre de facteurs motivationnels, comme le suggèrent les cellules qui ont une activité accrue au niveau des sites de récompense (**figure A2**).

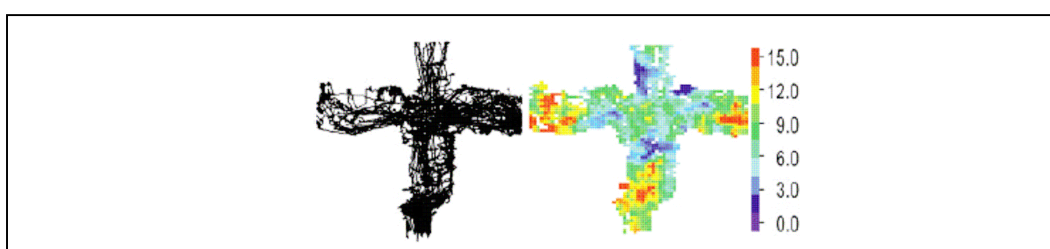


Figure A2. L'activité des cellules de la formation hippocampique est faiblement corrélée à l'espace chez le pigeon. D'après Siegel et al., 2005.

Le fait de tester la présence de corrélats spatiaux dans un labyrinthe bi-dimensionnel est critiquable en termes écologiques, dans la mesure où le pigeon évolue normalement en environnement tridimensionnel et sur une échelle beaucoup plus importante. Utiliser les mêmes paradigmes que les rongeurs permet de comparer les données avec le rongeur, mais un tel dispositif est mieux adapté aux animaux terrestres comme le rongeur.

Le dispositif dans lequel est testé le pigeon est un labyrinthe en croix, délimité par des parois hautes et empêchant l'animal d'accéder visuellement à tout autre endroit de la pièce que dans le bras dans lequel il se trouve. Il serait donc intéressant de tester l'activité des cellules hippocampiques dans un environnement ouvert (*open field*).

Même s'il est difficile à l'heure actuelle d'établir des conclusions sur la présence de corrélats spatiaux des cellules de la formation hippocampique du pigeon, le résultat de cette étude permet de nuancer la théorie selon laquelle les caractéristiques des cellules de lieu de l'hippocampe de rongeur forment le code spatial universel qui permet de décrire les représentations de l'espace : ce code peut effectivement varier en fonction des espèces et de l'histoire évolutive. Il serait plus approprié de dire que c'est le milieu dans lequel l'animal évolue qui façonne comment l'activité des neurones hippocampiques doit capturer les

propriétés de l'espace et les combiner aux informations motivationnelles et/ou attentionnelles.

2. Chauve-souris

Les chauves-souris sont des mammifères nocturnes, phylogénétiquement assez distant des rongeurs. Elles sont malgré tout pourvues d'une excellente mémoire spatiale, ce qui a motivé Ulanovsky & Moss (2007) à enregistrer, pour la première fois, les signaux électrophysiologiques hippocampiques de chauve-souris entraînées à ramper au sol pour trouver de la nourriture, dans un paradigme expérimental comparable en tout point à celui utilisé pour enregistrer les signaux des rongeurs. A ceci près que la chauve-souris utilise en plus la vision, le système d'écholocation pour naviguer, ce qui lui permet d'établir une représentation allocentrée de l'espace dépendante de l'hippocampe (Surlykke & Moss, 2000). Il est intéressant d'observer que les cellules de l'hippocampe de chauve-souris sont comparables à celles des cellules de lieu de rongeur. Elles présentent aussi une bonne sélectivité spatiale et une bonne stabilité entre deux sessions d'enregistrement (**figure A3**).

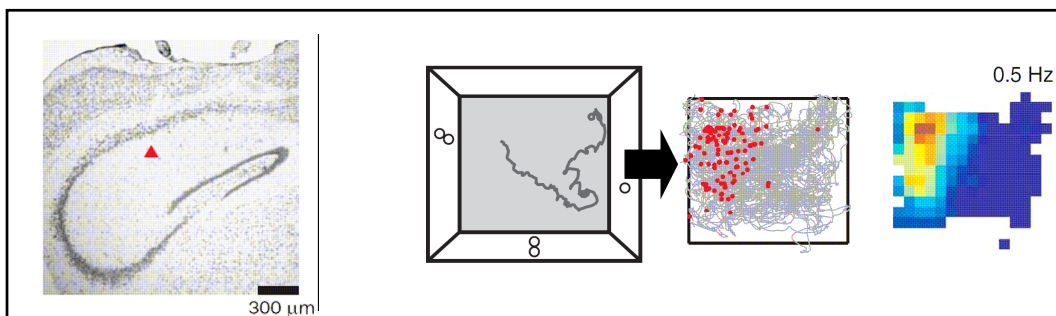


Figure A3. Les cellules de lieu de l'hippocampe dorsal de chauve-souris, enregistrées dans le même paradigme que celui utilisé pour les rongeurs montrent les mêmes caractéristiques que les cellules de lieu des rongeurs. D'après Ulanovsky & Moss, 2007.

La comparaison entre ces deux espèces permet de mettre en avant aussi des différences, et notamment au niveau du rythme thêta hippocampique : les oscillations thêta chez les rongeurs sont connues pour être émises en continue quand l'animal se déplace et pour disparaître lorsque l'animal est immobile. Par contre, chez les chauves-souris, le rythme thêta est observé en discontinu et est présent uniquement lorsque l'animal explore l'environnement sans locomotion (grâce à l'écholocation). Ces derniers résultats seraient plutôt à mettre en parallèle avec ceux obtenus chez le chat, qui montrent que le thêta est maximal chez les animaux immobiles et engagés dans une recherche et/ou fixation visuelles actives d'une proie (Robinson, 1980 ; Winson, 1972).

Ainsi, d'une espèce à l'autre le thêta paraît avoir des rôles bien différents et restent encore à discuter. Néanmoins, ce qui semble commun à toutes les espèces, c'est que la puissance du rythme thêta augmenterait avec le flux des entrées sensorielles, ce qui expliquerait pourquoi le thêta est corrélé avec la vitesse d'exploration chez les rongeurs mais aussi avec la fréquence d'écholocation chez les chauves-souris.

Le rapprochement des données sur les chauve-souris et avec celles des autres espèces présente un intérêt car il permet de dégager des hypothèses générales concernant le rôle du rythme thêta hippocampique mais aussi concernant le rôle de l'hippocampe dans la navigation spatiale en général.

3. Singe

Alors qu'Ono et al. (1993) décrivent chez le singe des cellules de lieu (13,4% des cellules enregistrées) similaires en de nombreux points à celles observées chez le rat, Rolls et al. (1997 et 1999) trouvent un type de cellules qui n'avait encore jamais été décrit chez les rongeurs : la cellule de 'vue spatiale'. Ces cellules ont pour caractéristique d'être sensibles à l'emplacement vers lequel l'animal porte son attention, plutôt qu'à celui où il se trouve réellement. L'activité de ces cellules ne dépend pas non plus de la direction de la tête de l'animal. Ces cellules continuent de répondre même si l'emplacement à l'origine de la réponse est masqué par des rideaux, ce qui suggère que ces cellules ne répondent pas aux simples caractéristiques sensorielles de cet emplacement.

L'existence de ces cellules « spatial view » indiquerait que les primates ont su développer une habilité à identifier des lieux sans nécessairement les visiter, une étape cruciale dans l'évolution du système des représentations spatiales.

Cependant, ces recherches n'ont pas réussi à faire l'objet d'un consensus concernant la présence de cellules de lieu comparables à celles trouvées chez le rongeur. Cette lacune provient sans doute d'un problème d'ordre méthodologique, car jusque là, l'animal était fixé sur une chaise roulante ou dans une cabine motorisée, la tête en contention. Il est important, si on souhaite comparer les signaux électrophysiologiques de rongeurs et de primates de façon appropriée, de recueillir les signaux électrophysiologiques de singes libres de leur mouvement dans des environnements adaptés à leur répertoire comportemental. Il a été en effet démontré chez le rat, qu'un mouvement libre était nécessaire pour activer de façon optimale l'activité des cellules de lieu (Foster et al., 1989).

Récemment, des progrès techniques ont été réalisés dans ce sens par Ludvig et al. en 2004. Ils montrent que certaines cellules du singe écureuil présentent des

champs d'activité corrélés à l'espace au niveau des murs grillagés de l'environnement expérimental (**figure A4**), zones qui n'auraient pas pu être échantillonnées dans les dispositifs de Rolls et d'Ono, dans lesquels les animaux étaient cantonnés au sol.

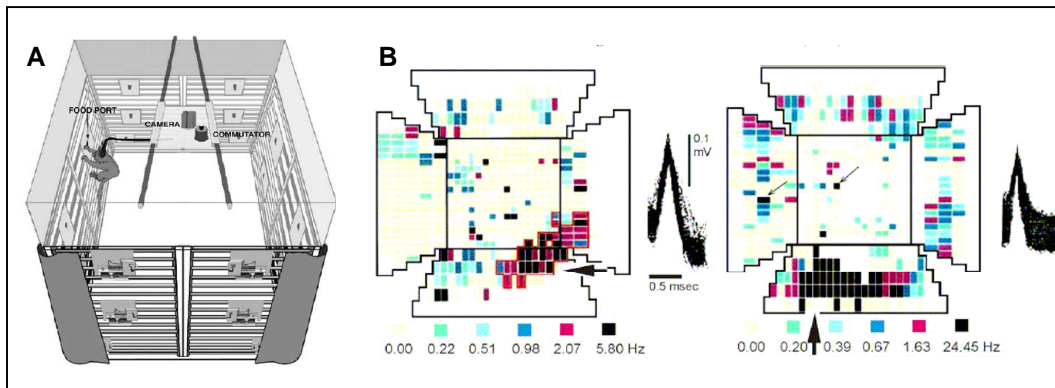


Figure A4. 'Cellules de lieu' de singes libres de leur mouvement.

A. Dispositif d'enregistrement dans lequel l'animal peut se mouvoir dans un environnement complexe, 3D. **B.** Cartes d'activité de deux cellules enregistrées chez deux animaux. Le code couleur est représenté sous chaque carte. Jaune = pas de décharge ; noir = décharge maximale ; blanc = endroit non visité par le singe. Sur chaque carte, le carré central représente le sol et les trapèzes représentent les murs. Notez que chaque cellule décharge à un endroit bien particulier du dispositif, et relativement étendu (indiqué par la flèche en trait gras). Des trains de potentiels ont aussi été enregistrés en dehors du champ principal (indiqué par les flèches en trait fin sur la carte de droite). D'après Ludvig et al., 2004.

A travers toutes ces études qui examinent les propriétés des cellules hippocampiques, on comprend à quel point il est crucial de tester les animaux dans le paradigme expérimental le mieux adapté possible au répertoire comportemental de chaque espèce, ce qui est malheureusement souvent limité par les aspects techniques.

4. Homme

Grâce à l'enregistrement en IRM chez des chauffeurs de taxi londoniens ayant à résoudre un problème de navigation complexe en environnement virtuel, Maguire et al. (1997) ont montré une activation spécifique de l'hippocampe droit. Un peu plus tard, la même équipe (Maguire et al., 2000) observe que le volume de l'hippocampe postérieur (correspondant à l'hippocampe dorsal des rongeurs) était significativement plus important chez les chauffeurs de taxi que chez les sujets témoins. Toujours dans une tâche de navigation spatiale en environnement virtuel, Ekstrom et al. (2003) ont enregistré pour la première fois des neurones de 7 patients épileptiques (résistants au traitement pharmacologique), pendant qu'ils réalisaient une tâche de navigation spatiale en environnement virtuel (**figure**

A5A). Dans cette étude ils ont enregistré 279 neurones dans le lobe temporal droit (hippocampe, amygdale, parahippocampe) et le cortex frontal droit et ont trouvé des neurones ayant des activités spécifiques pour le lieu (**figure A5B**), le point de vue ou le but, ainsi que des activités combinant ‘lieu x vue’, ‘vue x but’, ‘lieu x but’. Les cellules ayant des réponses associées au lieu ont été enregistrées plutôt dans l’hippocampe (24% dans l’hippocampe versus 8% dans le parahippocampe), alors que les cellules ayant des corrélats de vue indépendamment du lieu (homologues à celles découvertes chez le singe) sont retrouvées en plus grand nombre dans le parahippocampe (17% versus 5% dans l’hippocampe). Les cellules de but se retrouvent à la fois dans le lobe temporal et dans le cortex frontal. Comme le prédisent les données sur les rongeurs, les cellules avec corrélats spatiaux ne montrent pas de directionnalité privilégiée étant donné que les individus peuvent bouger librement dans l’environnement et ne sont pas contraints à suivre une direction.



Figure A5. **A.** Jeu de réalité virtuelle. Le sujet doit jouer le rôle d’un chauffeur de taxi. Il explore préalablement l’environnement virtuel (permet aussi de contrôler les réponses éventuellement liées à la perception spécifique d’un objet de l’environnement). Lorsque le sujet trouve sur la route un client qui apparaît aléatoirement, il doit le déposer au magasin demandé (un parmi les trois magasins cibles potentiels). La configuration et la nature des ‘magasins cibles’ change à chaque essai. A droite, vue d’avion de l’exemple d’une configuration. Les carrés verts représentent des bâtiments non cibles. **B.** Exemple d’une carte d’activité d’une cellule lieu - spécifique enregistrée dans l’hippocampe droit. La ligne rouge indique la trajectoire du sujet, et le carré noir indique une région ayant un taux de décharge significativement élevé ($p < 0.01$). D’après Ekstrom et al., 2003.

Tous ces résultats remarquables sont donc en accord avec l’idée que l’hippocampe de nombre d’espèces, jouerait un rôle fondamental dans la représentation de l’espace requise pour les activités de mémorisation et de navigation. Chez l’homme, comme chez l’animal, il existerait des mécanismes neuronaux spécifiques impliqués dans la mémoire spatiale. Même si le détail de ces mécanismes peut varier d’une espèce à l’autre, il est cependant probable que les principes généraux de l’implémentation neuronale de ces processus respectent un plan d’ensemble commun au sein duquel l’hippocampe jouerait un rôle important. Dans toutes les espèces, une des fonctions essentielles de l’hippocampe serait vraisemblablement de créer un contexte favorable au traitement de la mémoire épisodique en fournissant un cadre spatial aux souvenirs.

Pigeon Homing along Highways and Exits

Hans-Peter Lipp,^{1,*} Alexei L. Vyssotski,¹
David P. Wolfer,¹ Sophie Renaudineau,²
Maria Savini,³ Gerhard Tröster,⁴
and Giacomo Dell’Omo¹

¹Institute of Anatomy
University of Zürich
CH-8057 Zürich
Switzerland

²Laboratory for the Neurobiology of Cognition
Unité Mixte de Recherche 6155
Centre National pour la Recherche Scientifique
Marseille
France

³University La Sapienza
Rome
Italy

⁴Institute for Electronics
Swiss Federal Institute of Technology
Zürich
Switzerland

Summary

Background: Anecdotal observations and early airplane and helicopter tracking studies suggest that pigeons sometimes follow large roads and use landmarks as turning points during their homeward journey. However, technical limitations in tracking pigeon routes have prevented proof.

Results: Here, we present experimental and statistical evidence for this strategy from the analysis of 216 GPS-recorded pigeon tracks over distances up to 50 km. Experienced pigeons released from familiar sites during 3 years around Rome, Italy, were significantly attracted to highways and a railway track running toward home, in many cases without anything forcing them to follow such guide-rails. Birds often broke off from the highways when these veered away from home, but many continued their flight along the highway until a major junction, even when the detour added substantially to their journey. The degree of road following increased with repeated releases but not flight length. Significant road following (in 40%–50% of the tracks) was mainly observed from release sites along northwest-southeast axis.

Conclusions: Our data demonstrate the existence of a learned road-following homing strategy of pigeons and the use of particular topographical points for final navigation to the loft. Apparently, the better-directed early stages of the flight compensated the added final detour. During early and middle stages of the flight, following large and distinct roads is likely to reflect stabilization of a compass course rather than the presence of a mental roadmap. A cognitive (roadmap) component manifested by repeated crossing of preferred topographical points,

including highway exits, is more likely when pigeons approach the loft area. However, it might only be expected in pigeons raised in an area characterized by navigationally relevant highway systems.

Introduction

The most widely accepted explanation for pigeon homing over distances of 20 km and more is that they rely on a “map-and-compass” strategy. It has remained undisputed that pigeons have an internal clock and an internal sense of compass direction home and that this latter sense depends on the position of the sun, if visible. Yet directional knowledge alone is not sufficient for successful homing, and so pigeons must also have a large-scale mental map containing information about their current position with regard to their loft [1]. Mechanisms of position determination and the nature of the mental map used by homing pigeons have remained controversial for decades. Supporters of the magnetic theory of pigeon homing claim a predominant role of the earth’s magnetic field for both compass and map mechanisms [2]. Others propose a major role of the olfactory system and atmospheric gradients [3, 4]. Although vision is helpful yet not mandatory for successful long-distance homing [5–7], there is general agreement that pigeons rely at least partially on visual cues for flights within their familiar home range, 2–4 km around the loft [8–10]. Whether the local visual information is used by the birds for homing from distant release sites—a strategy coined “pilotage” [11]—has been equally controversial [2, 12–16].

Likewise, the nature of the objects used by pigeons for pilotage has been debated. Breeders of racing pigeons have often observed that large flocks of homing pigeons fly along major highways [17], and it is a familiar observation for most pigeon breeders that the birds often do not approach the home loft according to a straight compass direction from the release site. Early attempts to identify topographic guide-rails used by homing pigeons (e.g., roads, railways, powerlines) by means of airplane tracking have yielded equivocal results [18]. Some studies reported positive evidence [19]; helicopter tracking studies even found that pigeons were circling over road crossings [20]. However, even in these positive cases, observations were rare and anecdotal. Moreover, other, older tracking studies found little or no evidence for even occasional use of topographic leading lines [21–24], although there seems to be agreement that pigeons appear to be attracted to villages and cities [20, 24, 25]. Even the most recent and widely publicized “discovery” of pilotage along British highways [17, 26] refers, according to the experimenters, to anecdotal cases observed during short-distance releases [27, 28] or to observations from unpublished data [29].

The major obstacle to verifying navigational use of landmarks such as roads or characteristic locations has been technical. Although the angle at which an individual

*Correspondence: hplipp@anatom.unizh.ch

pigeon leaves the release site and the time at which it arrives at the loft can be easily recorded, the intermediate journey has been near impossible to follow accurately and frequently enough for statistical analysis. Even the use of route recorders monitoring angular changes in flight direction [14, 30–32] has not been able to produce the necessary data for quantitative analysis. Recently, however, new technological advances have provided the materials necessary for significant advances in the ability to record flight paths. Our lab has utilized GPS (global positioning system) technology to develop miniaturized path loggers that sit on the pigeons' backs and precisely record the entire route taken by individual homing pigeons during their flight back to the loft [33–35]. Because even the first technical studies provided single-case evidence for a road-following strategy of homing pigeons [34], we have, for the last four years, focused on employing this method to test predictions of the magnetic, olfactory, and visual hypotheses of bird orientation.

Results and Discussion

Overall Road Following

The presented analysis is based on 216 technically complete GPS tracks obtained from 34 birds during the years 2001–2003. Pigeon tracks not presented here include birds with experimental treatments or pigeons released in small flocks. All pigeons were pre-trained from five often-used and nine seldom-used release sites chosen for their ability to reveal topographic and geomagnetic impacts on homing routes. Details for the five major release sites are found in Table 1. The loggers recorded the position of the pigeons in intervals of 1 s, with an accuracy of ± 6 m [34]. The loft was located 20 km west of Rome (Testa di Lepre), at an altitude of 20 m above sea level, in a small, flat, canyon-type valley connecting with the Mediterranean sea (for details of topography and methods, see the Supplemental Data available with this article online). The nearest main road runs north-south and crosses coastal highway Nr. 1 (SS Aurelia) at highway junction 22, about 3 km south of the loft.

A large-scale motorway map (1:300,000) with all flight paths superimposed shows that the experienced pigeons accurately oriented themselves homeward on release, regardless of the position of the release site. Yet, many flight paths of pigeons released from 28 km north-west (NW) at Santa Severa (or approaching the shoreline from a northwestern release at sea), converged and ran together over long distances (Figure 1). These common pathways appear to be associated with the coastal highways Nr. A12 and the SS Aurelia, and, to a lesser extent, with the coastal railway. Tracks of pigeons released from the north converged into the flat valley leading to the loft, whereas tracks from the northeast fanned out more but finally merged with the former. Tracks from the southeast were more dispersed but aggregated approximately at the highway junction between the SS Aurelia and the valley road leading to the loft. Finally, pigeon tracks from the south also converged on this point and continued northward to the loft. Although this pattern of tracks looked suggestive, the question remained as

Table 1. Details of Release Sites

Main Release Sites	Beeline (km)	Direction	Number of Tracks	Number of Birds	Measurements with 100 m Squares				Measurements with 250 m Squares			
					Track Length ^a (km)	Actual Road Length (km)	Simulated Road Length (km)	p Value t-test ^b	Percent of Tracks for which p < 0.05 ^c	Actual Road Length (km)	Simulated Road Length (km)	p Value t-test ^b
Cesano	19.5	N	34	19	34.4	2.2	2.0	n.s.	5.9	5.3	4.8	n.s.
Marcigliana	24.9	NE	40	16	43.2	2.5	1.7	0.0004	15.0	5.7	4.2	0.0009
Santa Severa	27.6	NW	36	20	45.7	2.2	2.2	<0.0001	41.7	11.3	6.0	<0.0001
Via Pontina	32.2	SE	38	17	44.1	3.6	1.8	<0.0001	47.4	7.0	4.1	<0.0001
Seaside	52.0	WNW	32	18	37.6	2.7	1.7	0.0002	46.9	8.8	4.7	<0.0001
All pigeons		n = 34	216		39.6	3.0	1.8	<0.0001	28.2	6.9	4.5	<0.0001
Random independent sample		n = 31	31		39.7	2.5	1.5	0.0006	19.4	5.9	3.9	0.0018

^aFor seaside release; track length over land only is shown.

^bTwo-tailed t-test for related samples.

^cRefers to the number of real tracks with more road-following than expected by chance as computed by simulation.

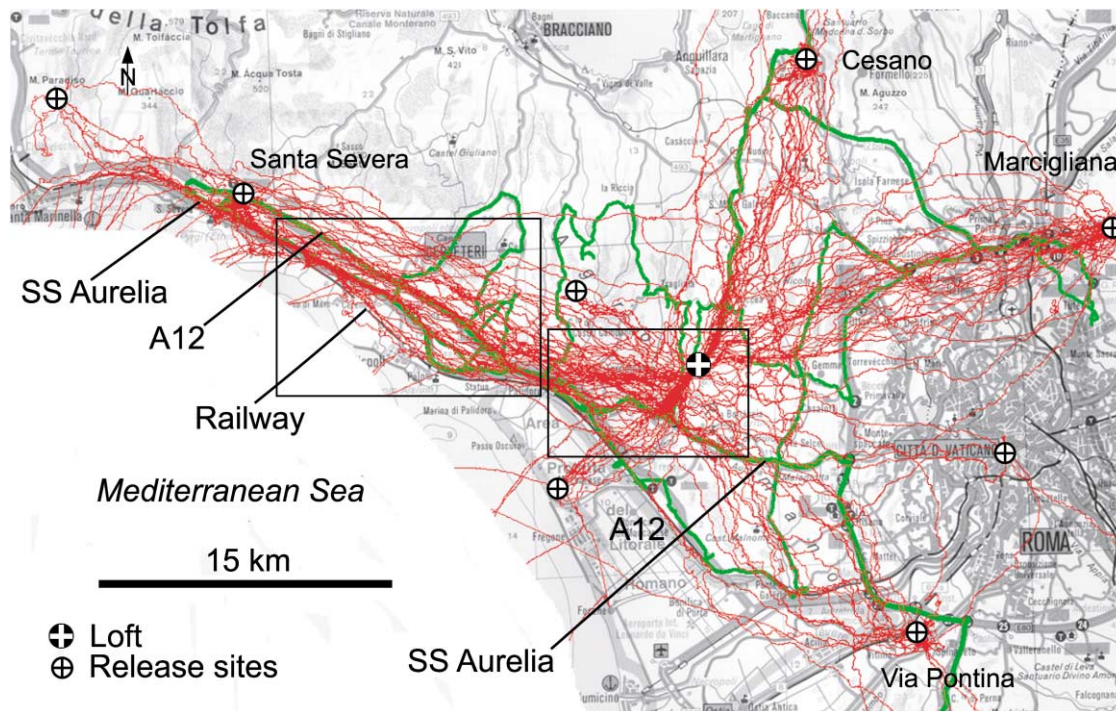


Figure 1. Tracks, in Red, of 216 GPS-Equipped Pigeon Flights Near Rome during 2001–2003

Dense strips of paths overlaying coastal highways and railway reflect pigeons released from the northwest and from the sea. Note that many pigeons arriving from the sea did not turn homeward at the shoreline but flew until they met the coastal highway running 1–2 km from the coast. Frames indicate regions of interest shown in Figures 3 and 4. Green bands show the course of highways and roads as recorded by a pigeon GPS logger placed in a car.

to what degree it may have been caused by chance and to what degree it may have been caused by a specific distribution of roads and highways in that region.

Statistical Analysis of Road-Following Behavior

The main problem for statistical testing was to define a null hypothesis for the distribution of tracks between the release site and the loft. The flight paths of homing pigeons show many peculiarities not easily addressed by geometrical models using a defined distribution of paths along the beeline (the shortest distance between the loft and the release site). Using a variant of bootstrap simulation [36], we generated a distribution of virtual flight paths by extracting the geometrical information from the available 216 tracks. In brief, we assumed that any pigeon could have used, by adjusting for distance, any of the 216 trajectories to fly home, some of these trajectories being more straightforward, others more tortuous. We also assumed that the pigeon could choose a route symmetrical to the beeline. Thus, a “virtual pigeon” could use $216 \times 2 = 432$ variants to fly home. Because the release sites had different locations and directions to the loft, trajectories from a given release site to the loft were rotated and scaled to fit any combination of release site and loft. We visualized their distribution by using density maps, which we computed by dividing the study area into a grid of 100×100 m squares (for comparison, we also divided the study area into 250×250 m squares) and then counting the number of tracks coinciding with each square. This resulted in two density

maps, one containing the actual 216 tracks (Figure 2A) and the other presenting those tracks reiteratively scrambled and fitted to the same release sites (Figure 2B). For the real tracks, the same clusters as observed in Figure 1 were again seen, whereas the virtual map showed a smooth density of all possible virtual tracks within the actual observed boundaries.

For the statistical testing of road-following behavior, a pattern of roads and highways recorded by GPS tracking devices in a car was overlaid computationally with square grids of different cell sizes (100×100 m, 250×250 m, and 500×500 m), with one cell centered on the home loft. The roads included the large highways (A12 and SS Aurelia) running from northwest (NW) to southeast (SE), the large ring highway around Rome, the road in the valley of the loft, and some smaller roads running north-south, either along a flight direction or perpendicular to the flight axes from NW to SE. The number of squares crossed by a real flight track and also the number of road-containing squares crossed by the track were counted, resulting in estimates of the length of a track associated with a road and the length of the entire track. This procedure overestimated the true track length as measured by GPS by 14.6% (for squares of 100×100 m) but remained highly correlated with the GPS track ($r = 0.94$). For statistical comparison, the number of road-associated squares crossed by any of the 432 virtual tracks and their flight path length were computed similarly, giving a mean simulated flight path length and track length close to the roads. The calcula-

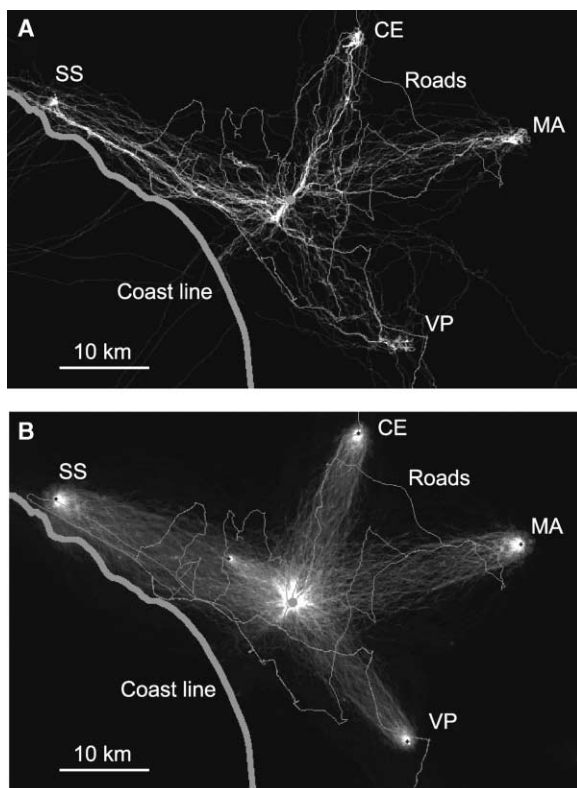


Figure 2. Actual and Simulated Density Plots

Grayscale coding indicates the probability of finding a pigeon in a specific quadrant (white = 1.0; black = 0). Dark gray lines indicate the coast, and small gray lines indicate the major motorways and smaller roads that were used in the computational analysis.

(A) Actual density (N releases = 216). Bright spots correspond to the major release sites and the loft (in the center).

(B) Simulated density of the null hypothesis of trajectories, with the assumption of no landmarks so that any route may be chosen.

tion of such values permitted the application of conventional statistical methods for comparing mean values of real and simulated road-following scores for different release sites. It was also possible to calculate the probability that a given real track would overlay the GPS-mapped roads by chance (see Experimental Procedures).

Table 1 shows a comparison of averaged real and simulated path lengths for all 216 tracks observed in 34 birds and respective scores for the five major release sites. Because the statistical comparison of all tracks includes a mixture of birds released only once and those released repeatedly, we randomly selected a sample of 31 tracks, each one from a different pigeon and a different date of release. Because this sub-sample included, by chance, many tracks over regions containing no marked roads, we consider it as the most conservative estimate of road-following tendency in our collection of tracks. The statistically most distinctive values were those obtained with square sizes of 100×100 min and were thus used for correlative statistics shown later. However, this stringent criterion clearly underestimated the road-following tendency of the birds because there is no need for road-following pigeons to fly above the

road or within 50m of it. The road-following scores obtained with squares of 250 m side length (125 min on each side of the road) correspond better to the visual impression provided by inspection of tracks shown on topographical maps. We use this resolution of 250 min squares for description here; although scores based on squares of 500×500 m appear to match the eye-scoring best, they also increasingly include virtual tracks, diluting statistical precision.

Overall, the 216 tracks showed an average road-following score of 6.9 km as compared to 4.5 km expected by simulation, the difference being highly significant ($p < 0.0001$) and 28% of the tracks being classified as significantly road-following. The conservative sub-sample still showed a highly significant difference between real and simulated road following ($p < 0.001$). A comparison of the various release sites revealed interesting differences despite the fact that the regions contained different patterns of marked roads and highways. From the northern release site (Cesano, Figure 1), there was no difference between real and simulated track length, although many of the pigeons released there showed preferential road following from other sites. The pigeons could have followed a country road fairly coincident with the bee-line but did so only during the last kilometers before the loft, after the road descended gradually into the shallow creek of the Arrone valley. Likewise, road following from a northeastern release site (Marcigliana) was only moderate, although highly significant (5.7 km real versus 4.2 km simulated, six out of 40 tracks being considered statistically as road following). This low road-following tendency is understandable given that the pigeons needed to cross the periphery of Rome and fly above many intersecting roads. The score is certainly biased; the only road recorded by GPS in this region was the large four-to-six-lane highway around Rome. Visual inspection of maps revealed, however, that the pigeons appeared to largely ignore other minor roads leading toward their loft. This and the results from the Cesano release site suggest that the size of the road partially influences the road-following tendency of experienced pigeons.

Road following was notably more pronounced from release sites where pigeons had to fly along a NW-SE axis. From these release sites, between 40% and 50% of individual tracks were classified as road following. For further description, we concentrate specifically on these release sites.

Choosing and Following Highways

We chose the northwestern release site at Santa Severa to test whether pigeons would follow the compass direction home or preferentially join roads leading homeward. This was possible because they had to fly for about 20 km across a large plain (occupying 8–10 km between coast and northern hills) that is devoid of any topographical obstacles enforcing a particular flight trajectory (see altitude map and flight tracks in the Supplemental Data) and contained distinct longitudinal objects. The aggregation of flight paths over a distance of many kilometers along highways can be seen with particular clarity on a small-scale map (Figure 3) showing 72 tracks from 28

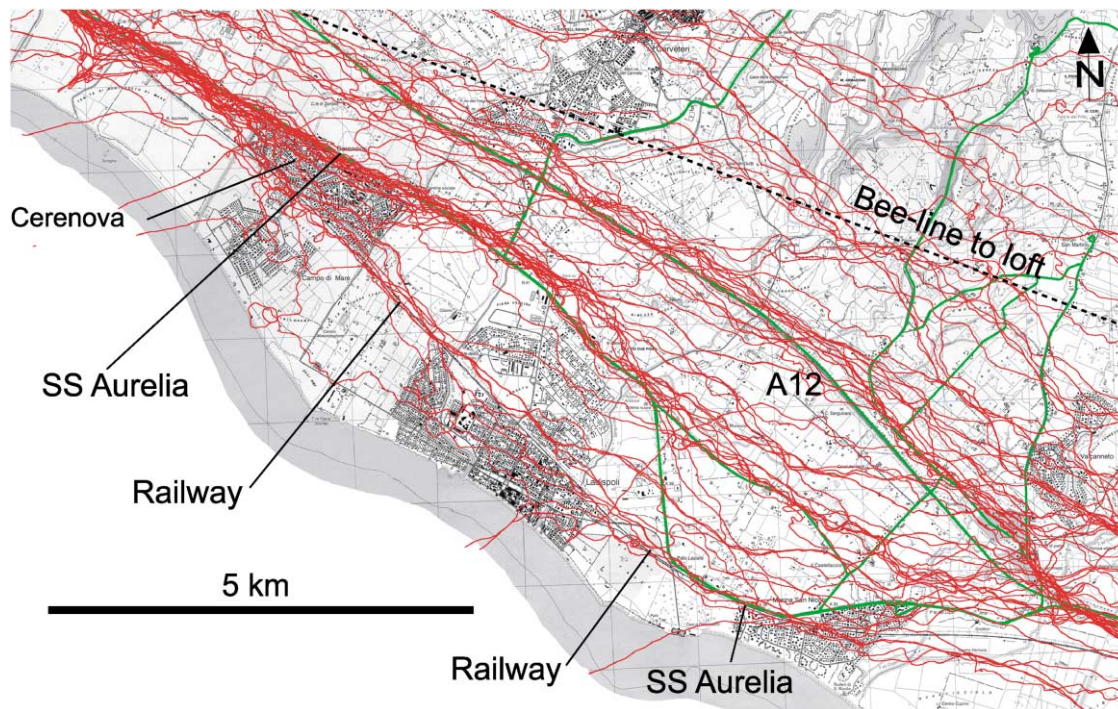


Figure 3. Pigeon Tracks along Motorways and Railway in Detail

The beeline to the loft shows the compass direction from the main release site in the northwest. Note an apparent conflict of directional strategies; pigeons appear to be attracted by both longitudinal objects in parallel to the beeline and by the proper compass direction. This conflict appears in two features; pigeons shift preferentially to the left of the highways when these turn away from the compass direction, and there are frequent break-offs of tracks subsequently aligning with the highway A12 or toward the beeline. Green lines show GPS tracks obtained by a car.

pigeons that had been released repeatedly from Santa Severa or the sea (from where the birds usually headed directly to the coast before turning homeward). A minority of tracks (10/72) loosely followed the beeline to the loft without any visible association to longitudinal features evident on a topographic map. On the other hand, most tracks (42/72) ran for the first 5 km after release in close proximity to the SS Aurelia, which was accompanied there by the coastal railway. In this segment of the journey, surprisingly few tracks (6/68) followed the A12, which passes in close proximity to the Santa Severa release site. The remaining tracks showed no clear associations with the highways. Upon approaching the village of Cerenova (Figure 3), a minority of tracks (10/72) broke off to the right by joining the railway that separated from the SS Aurelia at that point. However, the pigeons did not continually follow initially preferred objects. During the next 5–10 km, individual tracks veered from the SS Aurelia northward to join the A12, which appeared to attract increasingly more tracks or break off from the A12 toward the beeline. This trend toward the beeline may also explain why the birds had a tendency to fly on the left-hand side of the highways. Interestingly, pigeons did not join the equally distinct and easy-to-follow shoreline but rather chose to follow the man-made objects. Qualitatively, the road-following behavior was manifested most impressively at some 12–15 km after the release site. At this point, the three major longitudinal objects, A12, the SS Aurelia, and the railway, converged, and so did the pigeon tracks (Figure 3).

The quantitative analysis definitely underestimates the degree of object following because there were no GPS tracks of the railway trajectory available. Nonetheless, Figure 4 shows the estimates of road following according to the different criteria. Using a loose criterion of counting 500×500 m squares (250 m left or right from major highways), one notes that the pigeons followed highways on average for 16 km, not counting those flying along the beeline or railway. The ten tracks with the highest road-following scores ranged from 20 to 30 km (or from 12 to 20 km for the 250×250 m estimates). Given a beeline distance of 28 km from Santa Severa to the loft, these numbers are, indeed, impressive.

Road Following: Navigational Help or Human-like Road Use?

The data from all release sites show that pigeons can find the loft by using an apparently compass-based flight orientation but appear to prefer a road-following strategy along the NW-SE axis. This road-following strategy could correspond to a mechanism stabilizing a chosen flight direction (e.g., for humans, “this is my home direction and here is a long object leading roughly homewards”), or it may reflect a cognitive behavior based on a mental map (e.g., for humans, “this road is the A12 leading to Rome, I must follow it to exit 22 where I have to turn left and follow that road for three km to reach home”).

The more parsimonious interpretation is that large roads leading homeward stabilize a flight direction cho-

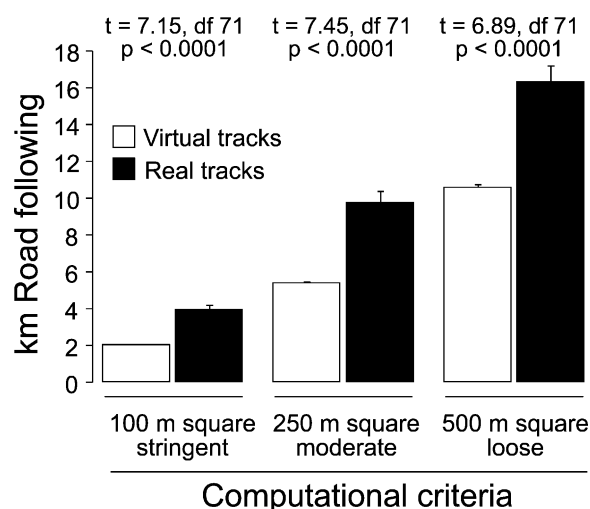


Figure 4. Road-Following Scores of Pigeons Traversing the Coastal Plain as Estimated by Different Measurement Grids

The sample includes 72 pigeons released from northwestern release sites (seaside and Santa Severa, see also Table 1). Note that the degree of real and simulated road following almost doubles with every increase in square size. The method using the largest squares provides an estimate that matches eye scoring on the maps but discriminates less (albeit still highly significantly) between simulated and real tracks. Error bars show the standard error of the mean. This graph is an exception insofar as it shows the best statistical discrimination with squares of 250 m side length. Normally, the smaller grids revealed more precise statistical discrimination.

sen by the pigeon, particularly when the birds are en route and far from the loft. The evidence for this comes from the observation that the birds break off from roads to join a course closer to the initial compass direction when the angular difference between road and loft direction is growing, but such corrections of flight course appear not to be bound to visible topographic criteria. The fact that many pigeons flew for long distances in parallel to the highways implies also that they served as visual guidance and that the birds were not relying on other motorway cues, such as heat, noise, or exhaust fumes. This is corroborated by one anecdotal case (observed during film recordings from the Santa Severa location at NW) showing that one bird held to a course along the A12 for about 10 km despite a strong and chilly side wind from the sea (50–70 km/hr, 4°C) that blew other pigeons up to the hills and beyond the bee-line. Thus, the attractiveness of the highway must have been considerable. There is also some evidence that the pigeons were not following just any longitudinal object pointing homeward but seemed to make a choice. Pigeons arriving from the sea preferred to follow the SS Aurelia (associated there with the railway) and not the shore or the A12, both running parallel to the road. They also seemed to have an overall predilection for large or four-lane highways, and they apparently ignored roads in regions where they were inappropriate for navigational help. Taken together, it appears that large roads served to stabilize, during the early and middle flight segments, a course direction compatible with the homeward direction. This would not correspond to a flight behavior based on pilotage by road reading. One should

also note that our releases took place maximally 50 km from the loft. Distances between 20 and 100 km pose for pigeons more orientation problems than homing from farther sites [37], presumably because long-distance gradients of geophysical or air-borne cues are better perceived when far from the loft. Hence, using roads as navigational help may be linked to this difficulty but obviously also depends on the road situation and topography of the area under study.

Approaching Home: Nodes, Beacons, and Landmarks

Within a smaller area (radius of 10 km from the loft), a cognitive component in the bird's navigational behavior was more evident. This part of the flight thus deserves a separate analysis illustrated for all pigeons approaching the loft from the NW or SE (Figure 5) and for a single case (Figure 6). The topography of the region including the final approach area without overlaying tracks can be found in detail in the Supplemental Data online. After the two coastal highways converge and cross, the SS Aurelia veers south of the loft valley until it crosses, at junction 22, a road leading up the Arrone valley. This junction at the entrance of the valley is characterized by a typical exit system associated with white supermarket buildings and a passage system painted blue. At least for humans, these are easy-to-remember spatial cues marking the motorway exit and entrance to the northern Arrone valley.

About 8–10 km from the loft, the flight tracks indicate that pigeons that had previously followed roads appeared to make a directional decision. This was often characterized by some circling (the usual behavior of pigeons at a release site during initial orientation). Such behavior took place in a zone where the two highways separated again, largely between the villages of Palidoro and Torrimpietra (their position being indicated in Figure 6). A minority of eight tracks showed a direct course toward Castello di Torrimpietra and continued from there straightforwardly to the home loft; these pigeons traversed plateaus, creeks, and valleys in order to descend to the goal, which was invisible during this approach (Figure 5). This may indicate a resetting of a compass direction, but we cannot exclude that the birds were attracted by a topographical point near the Castello di Torrimpietra (Figures 5 and 6) because this zone was also preferentially crossed by many tracks not associated with previous road following. The other tracks of the road-following pigeons either remained in proximity to the motorways A12 and SS Aurelia or made a shortcut directly toward exit 22. These pigeons reached the loft by means of a considerable detour, which added 4–7 km more to the last part of their journey. Although pigeons arriving from the west and northwest directions turned homeward in a sharp angle, 100–500 m north of exit 22, others arriving from the south and south-east crossed the SS Aurelia directly over the exit or passed close to it (Figure 5). It is noted that many pigeons were seen to circle briefly in the area between exit 22 and the entrance to the Arrone valley. Some of them took a route northward to the loft across a plateau, others followed the left valley road leading to the loft,

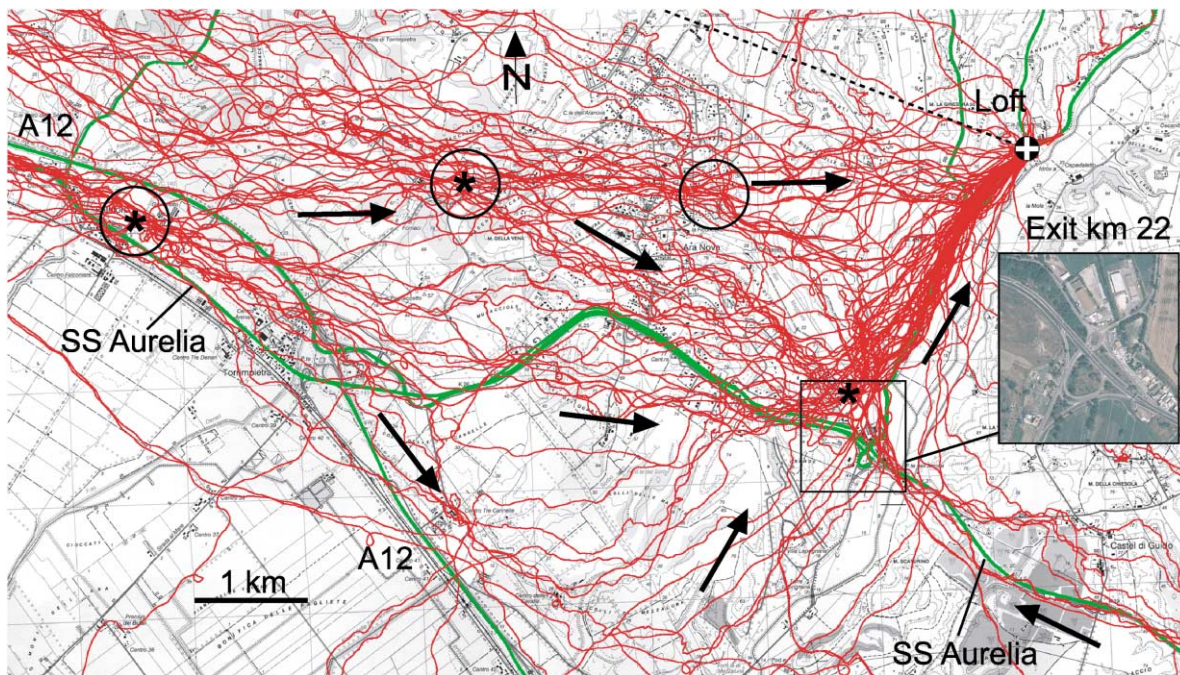


Figure 5. The Final Approach to the Loft by Direct and Indirect Routes Associated with a Landmark at Exit 22 of the Highway SS Aurelia. Top arrows: shortcut across creeks and plateaus by birds arriving from the northwest or from the encircled area between motorways. These birds could not see the loft during their approach. All other pigeons follow the routes marked by arrows and pass nearby or through exit 22. The loft is not visible from this point, either. Note that the motorway veers downhill and southeast to the right immediately before the exit, which becomes visible for pigeons only when they enter the framed area. Most pigeons arriving from the west thus cut the corner at the exit. Pigeons arriving from the south and southeast pass over the exit and avoid the valley's right side, leading to the loft. Inset: satellite view of exit 22. Circles show "traffic nodes" where pigeons appear to make decisions for taking directions. Asterisks indicate zones where pigeons were frequently observed to circle, typically a sign of navigational incertitude. Green lines mark the highway and road to the loft as revealed by GPS tracking with a car. For detailed topography, see also the Supplemental Data.

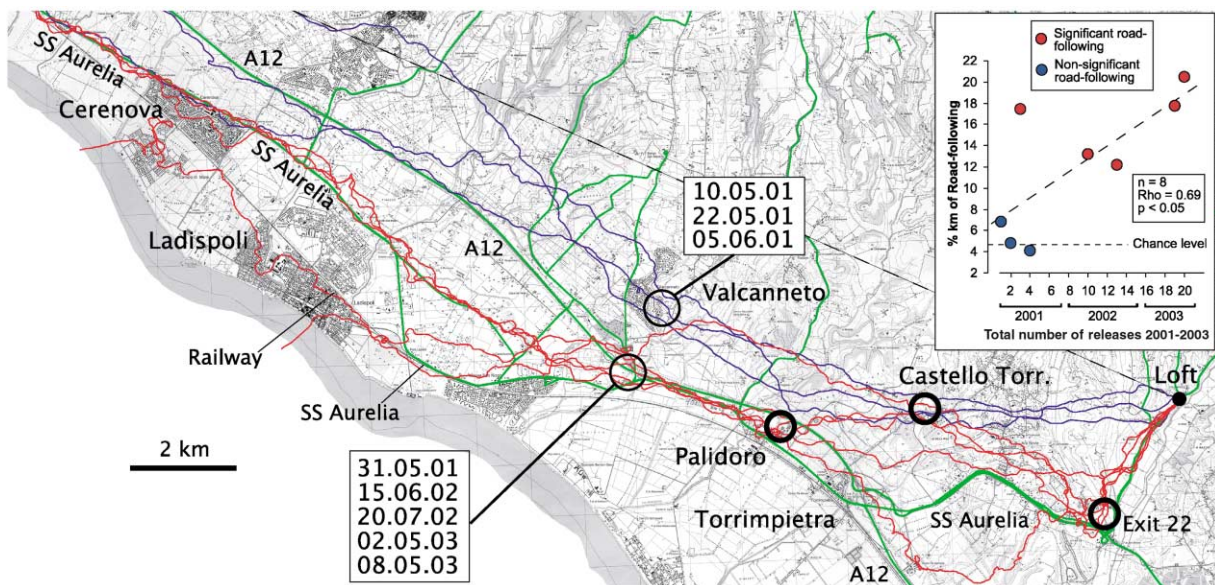


Figure 6. Learning of Road Following by an Individual Bird, Pigeon Nr. 9

The eight tracks recorded span a period of 3 years, with a total of 20 releases from different sites. The graph shows a significant correlation between the consecutive number of releases the pigeon has experienced and the relative road following (expressed as percentage of the entire flight track). Red tracks have been classified statistically as road following above chance level (4.5%, see graph). Large circles indicate topographical regions ("traffic nodes") passed regularly by the pigeon. Thicker circles indicate points of apparent navigational decision-making. Note the bifurcation point at Castello di Torrimpietra, from where the later flights (2002 and 2003) veered to the southeast in order to pass near exit 22.

and a few tracks joined a smaller road at the right rim of the valley (Figure 5). Exit 22 appeared to be a highly attractive point because many of the more northern tracts passing near the Castello di Torrimpietra veered southward to approach it, distinctly away from the home direction. Thus, the larger home area appears to be characterized by at least three geographical points, which the pigeons pass repeatedly and where they seem to make directional decisions. The most important geographical attractor was highway exit 22, which could not have been seen by pigeons approaching via highways from the SE or NW or directly from Torrimpietra, but it could possibly have been seen from Castello di Torrimpietra.

Individual pigeons frequently passed other geographical locations that cannot be seen on the map in Figure 5. Taken together, the ensemble of tracks and analysis of individual birds strongly suggests that the larger home area (up to 10 km) contains familiar geographical locations resembling traffic nodes, a concept associated with home-range patrolling of rodents [38]. These points may serve as beacons, i.e., as distantly perceived attracting objects permitting pilotage in the form of beacon-hopping homeward, most likely spotted over many kilometers. This would imply what is called taxon learning in animal psychology [39]. Although there might be some other beacons (inconspicuous to human observers) above the rim of the valley marking the position of the loft, both exit 22 and the loft itself are not visible for many birds because they are hidden in the Arrone valley. Making a detour to reach one invisible point via another invisible point, however, only makes sense if the birds have memorized that the loft can be safely reached by passing through the intersection of the SS Aurelia with the Arrone valley, this location being marked by a conspicuous object, exit 22 and adjacent buildings. In addition, they must have learned somehow that this invisible point can be found by following highways, preferentially the SS Aurelia. In this case, the location of exit 22 would represent a landmark in its navigational sense, namely a memorized object used to determine an invisible goal location, as for the Morris water maze task in which rodents are required to find a submerged platform by using extramaze navigational cues [40]. This conclusion, however, depends on the demonstration that road following is a learned strategy.

Learning to Follow Roads and Landmarks

The analysis of possible learning effects was hampered by the fact that all pigeons had been pretrained at least twice with GPS dummies from any new release site, that pigeons had undergone different numbers of releases and had different experience, and that we had no release information from old birds except that they were experienced long-distance racers. That pigeon routes are learned is most easily demonstrated by comparison of the first release from an unfamiliar site with the subsequent ones [14], but this carries the risk of frequent losses of GPS devices.

The releases from the NW (Santa Severa and the sea) were the focus of the analysis because they included the largest number of birds ($n = 24$) with repeated tracks (total 72) along the coastal plains. A single case analysis

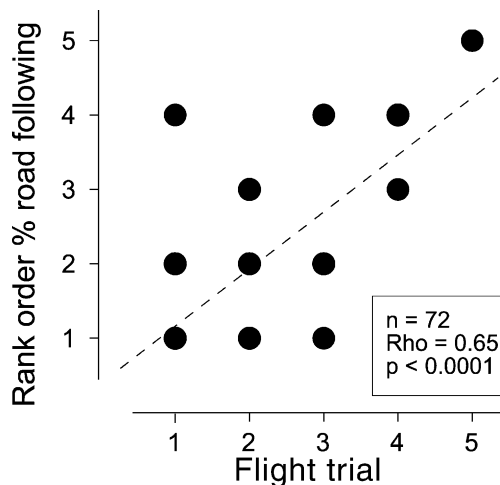


Figure 7. Learning to Follow Roads across the Coastal Plain

The plot indicates the flight trial (number of the release) at given sites (Santa Severa, the sea, and a more distant location northwest). In order to equalize differences in distance and locations as well as individual propensities of the pigeons, road following is expressed as rank order for an individual bird. This presentation is biased by a disproportionate amount of cases that have only one or two releases but illustrates that all birds having had several repeated releases show a ranking of road-following scores according to flight trial.

could be conducted with pigeon Nr. 9, having mastered 20 releases in three years, 8 of them along this axis, albeit with different track lengths. By plotting the degree of road following as a function of releases in chronological order, one can clearly see that the bird developed a significant habit of road following over time. During the first year, three out of four tracks were rather remote from roads, whereas during the following two years, the remaining five tracks were increasingly associated with the course of the A12 and SS Aurelia. All birds released from the NW were then analyzed, with individuals being ranked by their road-following score and these ranks being plotted against the number of the release (flight trial; Figure 7). This revealed a significant correlation between flight trial and road-following rank ($Rho = 0.65$, $p < 0.0001$). This crude correlation analysis is limited by the fact that there were many birds with one to three GPS releases, but it nevertheless distinctly shows that practically all pigeons improved their road-following score with more releases over time.

In order to verify these results, we then selected, from the entire sample of 216 tracks, 22 birds that had experienced three or more GPS-tracked releases and plotted their averaged road-following scores against the total number of releases (Figure 8). This clearly showed that the degree of road following was a matter of experience; the more releases the birds had done (and with it the more kilometers the birds had flown), the better were the road-following scores ($Rho = 0.59$, $p < 0.01$). This correlation was not a function of age because it was also shown by yearlings (Figure 8), provided they made several flights.

We then ran a similar analysis to check whether the pigeons arriving from the NW had learned to pass near exit 22 in order to reach the loft. For each pigeon, we

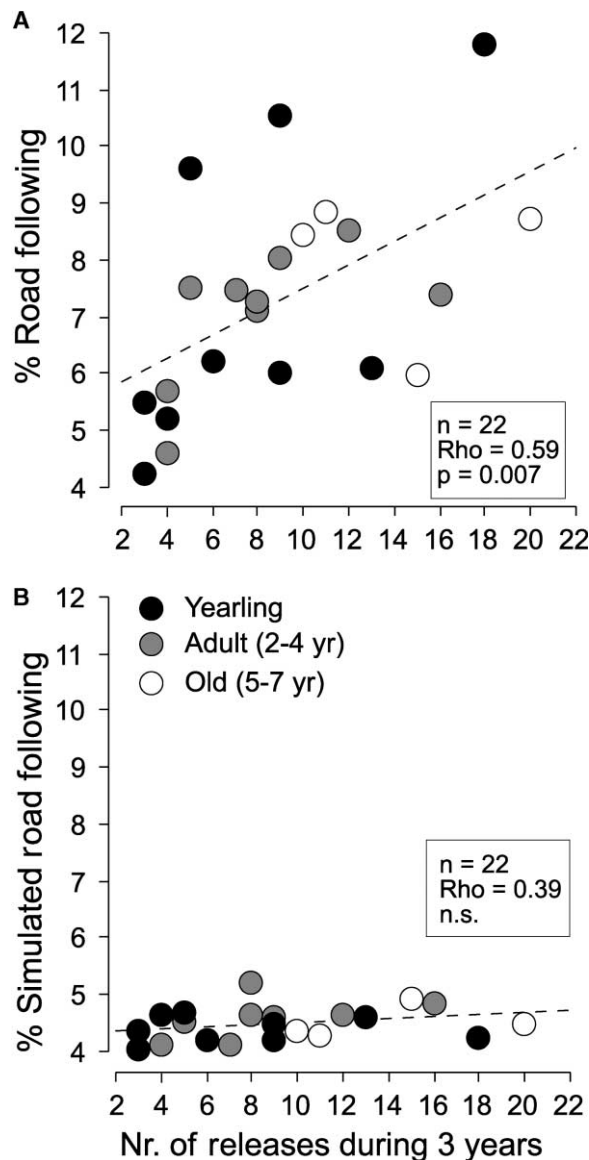


Figure 8. Learning and/or Optimization of Road-Following Scores for Individual Pigeons as Assessed from All Release Sites. The Plots Show Birds that Had at Least Three Releases

The X-axis shows the number of releases for a given pigeon. As in the inset of Figure 6, it corresponds roughly to the total flight distance covered by the pigeons.

(A) Significant correlation with actually observed road-following scores.

(B) Control plot with simulated road-following scores

calculated the minimal distance to the center of exit 22 and found a moderate yet significant correlation ($Rho = 0.31$, $n = 72$, $p < 0.01$) between the number of releases the bird had experienced and the pigeon's proximity to exit 22. Thus, both road-following and using landmarks appears to be learned, or at least optimized, with time and release number.

The Cost of Detours

Following roads and targeting specific landmarks causes the pigeons to deviate from a flight path along

the beeline which, in theory, should be the most economical homing strategy. But why were the birds adding mileage to their journey and even refining this behavior over time? One could argue that roads convey both directional and positional information, but the pigeon is then required to evaluate certainty of orientation against costs of flight – a non-trivial task even for humans. We tried to clarify the problem by calculating correlations of road-following scores with scores obtained with conventional track analysis providing additional information contained in the flight paths [34]. We carried out the analysis again by using the data from the 72 tracks from NW and verified it for the entire sample of 216 tracks. The somewhat surprising result was that the mean flight path length did not increase with road following, showing even a slight yet nonsignificant reduction ($Rho = -0.19$). A second and also unexpected finding was a moderate negative correlation of road following with average ground speed ($Rho = -0.27$, $p < 0.05$) and a positive correlation with path tortuosity ($Rho = 0.30$, $p = < 0.025$). In addition, we found a significant negative correlation of road following with altitude of flight as measured with GPS. However, it is necessary to evaluate the functional significance of this correlation by calculating altitude above ground level rather than above sea level. Thus, flight paths along roads were, perhaps, lower, and the birds tended to fly more slowly and more tortuously; they often swung regularly along the highways (for examples, see also Figure 6). On the other hand, flights across the countryside or hills were higher, faster, and more straightforward, but these were apparently associated with occasional yet substantial imprecision in directionality. Thus, road following appeared, overall, cost neutral in terms of energy, at least if one assumes that the energy costs were equal per kilometer of flight. Should road following permit a form of energy-saving flight style, this would explain why the pigeons developed a preference over time; such incremental learning usually requires a reward. Alternatively, if energy costs were equal for both road-following and non-following flights, the reinforcement of road-following could be familiarity; the pigeons might prefer to fly along known or at least familiar-looking objects instead of joining a compass direction across an unfamiliar countryside. Avoiding the unknown is a widespread rule among animals and humans and is probably the main source of habits, that is, behavioral acts developing without visible reinforcement and showing little extinction over time. From an ethological point of view, habit formation frees an animal's brain from a need to consciously attend to the once-difficult task and thus permits them to use their processing time and power for competing tasks such as watching for predators.

Do Pigeons Follow Roads Everywhere?

Our findings have served to clarify a long-standing debate concerning whether experienced pigeons can systematically use topographical guide-rails such as highways and specific landmarks to steer their home course. Historical tracking studies have found occasional evidence for such a strategy, including the observation that pigeons had a tendency to briefly visit previous release sites (see Introduction). On the other hand, there have

been many observations of pigeons ignoring such cues. Wagner [20, 25] performed detailed helicopter tracking studies by using different lofts and following pigeons from unfamiliar release sites across a broad variety of topographical constellations, and these studies have suggested that homing pigeons appear to be attracted chiefly by topographical features resembling their loft situation (e.g., type of village, type of landscape, patterns of roads). This appears to be the case here also; we assume that the behavior we observed is unlikely to be shown by pigeons that have not grown up in, and been trained to return to, a loft located close to major highways.

It is also clear that demonstration of road following requires a rather unique set of features, namely multiple guide-rails imperfectly aligned with the home direction. This was clearly the case for our study, but we realize that this prerequisite is rare. A study using compass-based route recorders [14] shows tracks that might have run along the northern coastal highway A12 from La Spezia to Pisa, and possibly along roads crossing a mountain between release site and loft. For technical reasons (assumption of a constant flight speeds that routes could be calculated from angular changes in flight direction), these loggers do not have the necessary precision to verify proper following of roads. Nonetheless, the region would lend itself to study with GPS path tracking.

Whether GPS tracking of real long-distance (>200 km) flights by homing pigeons will reveal similar orientation principles remains to be determined. Preliminary observation of Belgian racing pigeons over distances up to 380 km has shown similar temporary road-following behavior, albeit less pronounced than that shown here (unpublished data). Finally, we would like to agree with Walcott [41] that homing pigeons appear to have a remarkable ability to shift from one homing strategy to another, and thus we caution against uncritical generalization of our findings.

Experimental Procedures

GPS Loggers

We constructed the loggers or obtained them from NewBehavior AG, (Hardturmstrasse 76, CH-8005 Switzerland, <http://www.newbehavior.com>). The technical features of the processors used are described in full detail elsewhere [34]. The main difference between this and the earlier version is a reduced weight and the placement of a flexible rechargeable battery below the logger. The loggers had a battery capacity to record for 3 hr with a frequency of positional fixes of 1 Hz.

Pigeons

Birds of both sexes were used. They were 1–7 years old, and all individuals had undergone numerous training flights. All pigeons were bred locally and belonged to a line adapted to the location. Pigeons were housed in former Swiss Army mobile lofts obtained from the Swiss Homing Pigeon Foundation, as well as in a local loft used to keep racing pigeons. They were allowed to breed and raise chicks. Experimental pigeons carried a PVC dummy of the size and weight of the GPS loggers throughout the experimental season. Dummies and loggers were attached by means of an adhesive Velcro strip glued onto the feathers on the back of the pigeon [42]. Pretraining with dummies was necessary to habituate the birds to carry the weight (19–27 g) of a GPS logger. From any release site, each pigeon was pretrained twice, once in the form of a group release, once

by a single release. Between releases, pigeons were allowed daily spontaneous (free) flights near the loft. Repeated GPS tracking of such free-flying pigeons (in a flock) revealed that the birds were practically always flying in a radius of maximally 500 m around the loft. Only once, two veteran birds (aged 5 and 7 years) were observed to fly straightforwardly 10 km south to the shore, where they spent 20 min walking at the beach, presumably to collect sand for digestion. Afterward, they returned straightforwardly north to the loft. We assume that these two birds had a detailed knowledge of this north-south route.

Releases and Release Sites

Releases took place in the months from February to September of the years 2001–2003. All birds were released under at least partially sunny conditions, winds being absent or weak. Transport to release sites took place in a well-ventilated car. For releases from the sea, the pigeons underwent an additional journey in normal transport crates. They were allowed to adapt for at least half an hour to the release site in transport crates permitting them to see the horizon [43]. Prior to release, GPS loggers were activated, and the pigeon was placed in a small starting crate that was opened after 2–3 min. Birds were released in intervals of about 10 min or until the former pigeon had disappeared.

Analysis of Tracks

Qualitative and quantitative analyses of individual tracks were run with FUGAWI software (Northport Systems, 95 St. Clair Av. West, Toronto, M4V 1N6, Canada), MAP INFO (One Global View, Troy, NY 12180) and WINTRACK shareware (<http://www.dpwolfer.ch/wintrack>). Mathematical-statistical models were computed with MATLAB (Mathworks, 3 Apple Hill Drive, Natick, MA 01760-2098).

Standard Statistics

Mean values of track lengths and related scores for real and simulated scores were analyzed with related t tests. Analysis of correlations used the (nonparametric) Spearman's Rho test.

Probability Calculations for Single Tracks

We counted the probability of observing a given road-following score by counting the number of virtual tracks that had equal or higher road-following scores (e.g., an actually observed score higher than all 431 simulated scores would have a probability of $1/432$ [$p = 0.0023$]).

Supplemental Data

Additional figures, including black-and-white versions of Figures 3, 5, and 6, for printing with non-color printers, are available at <http://www.current-biology.com/cgi/content/full/14/14/1239/DC1>.

Acknowledgments

We thank Cesare and Maria Calderoni for expert care of pigeons, Mike Galsworthy and Gustl Anzenberger for critical reading, and Tim Guilford for discussions at the Santa Severa release site. We wish to thank also three anonymous reviewers for helpful comments. This work was supported by the Swiss National Science Foundation (NF and SCOPES 71P62145), the NCCR "Neural Plasticity and Repair," and the Swiss Homing Pigeon Foundation. H.P.L. and G.D. are shareholders of the spin-off company NewBehavior Inc., which markets GPS loggers for birds and mammals.

Received: April 15, 2004

Revised: June 9, 2004

Accepted: June 9, 2004

Published: July 27, 2004

References

1. Gould, J.L. (2004). Animal navigation. *Curr. Biol.* 14, R221–R224.
2. Wiltschko, R., and Wiltschko, W. (2003). Avian navigation: from historical to modern concepts. *Anim. Behav.* 65, 257–272.
3. Papi, F. (1990). Olfactory navigation in birds. *Experientia* 46, 352–363.

4. Wallraff, H.G. (2004). Avian olfactory navigation: its empirical foundation and conceptual state. *Anim. Behav.* 67, 189–204.
5. Schmidt-Koenig, K., and Schlichte, H.-J. (1972). Homing in pigeon with impaired vision. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69, 2446–2447.
6. Schmidt-Koenig, K., and Walcott, C. (1978). Tracks of pigeons homing with frosted lenses. *Anim. Behav.* 26, 480–486.
7. Lipp, H.-P. (1983). Nocturnal homing in pigeons. *Comp. Biochem. Physiol.* 76A, 743–749.
8. Holland, R.A. (2003). The role of visual landmarks in the avian familiar area map. *J. Exp. Biol.* 206, 1773–1778.
9. Wallraff, H.G., Chappell, J., and Guilford, T. (1999). The roles of the sun and the landscape in pigeon homing. *J. Exp. Biol.* 202, 2121–2126.
10. Burt, T., Holland, R., and Guilford, T. (1997). Further evidence for visual landmark involvement in the pigeon's familiar area map. *Anim. Behav.* 53, 1203–1209.
11. Able, K.P. (2000). The concepts and terminology of bird navigation. *J. Avian Biol.* 32, 174–183.
12. Arnould-Taylor, W.E., and Malewski, A.M. (1955). The factor of topographical cues in bird homing experiments. *Ecology* 36, 641–646.
13. Fuller, E., Kowalski, U., and Wiltshko, R. (1983). Orientation of homing pigeons: compass orientation vs piloting by familiar landmarks. *J. Comp. Physiol.* 153A, 55–58.
14. Bonadonna, F., Dall'Antonia, L., Ioalè, P., and Benvenuti, S. (1997). Pigeon homing: the influence of topographical features in successive releases at the same site. *Behav. Proc.* 39, 137–147.
15. Dall'Antonia, P., and Luschi, P. (1993). Orientation of pigeons exposed to constant light and released from familiar sites. *Physiol. Behav.* 54, 1173–1177.
16. Gagliardo, A., Odetti, F., and Ioalè, P. (2001). Relevance of visual cues for orientation at familiar sites by homing pigeons: an experiment in a circular arena. *Proc. R. Soc. Lond., B., Biol. Sci.* 268, 2065–2070.
17. Davies, C. (2004). Homing pigeons navigate by following roads. *The Telegraph*, UK, February 4. <http://portal.telegraph.co.uk/news/main.jhtml?xml=/news/2004/02/05/npige05.xml>.
18. Matthews, G.V.T. (1968) *Bird Navigation*, Second Edition. (Cambridge, UK: Cambridge University Press).
19. Griffin, D.R. (1952). Airplane observations of homing pigeons. *Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard* 107, 411–440.
20. Wagner, G. (1970). Verfolgung von Brieftauben im Helikopter. *Rev. Suisse Zool.* 77, 39–60.
21. Michener, M.C., and Walcott, C. (1966). Navigation of single homing pigeons: air-plane observations by radio-tracking. *Science* 154, 410–413.
22. Michener, M.C., and Walcott, C. (1967). Homing of single pigeons—analysis of tracks. *J. Exp. Biol.* 47, 99–131.
23. Hitchcock, H.B. (1952). Airplane observations of homing pigeons. *Proc. Am. Phil. Soc.* 96, 270–289.
24. Yeagley, H.L. (1951). A preliminary study of a physical basis of bird navigation. Part II. *J. Appl. Phys.* 22, 746–760.
25. Wagner, G. (1973). Verfolgung von Brieftauben im Helikopter II. *Rev. Suisse Zool.* 80, 727–750.
26. BBC. (2004). Pigeons reveal map-reading secret. *BBC News UK*, February 4. <http://news.bbc.co.uk/1/hi/uk/3460977.stm>.
27. Pilcher, H.R. (2004). Pigeons take the highway. *Nature Science Update*, February 10. <http://www.nature.com/nsu/040209/040209-1.html>.
28. Guilford, T., Roberts, S., Biro, D., and Rezek, I. (2004). Positional entropy during pigeon homing II: navigational interpretation of Bayesian latent state models. *J. Theor. Biol.* 227, 25–38.
29. RIN-Forum. (2004). Animal Navigation Group. Discussion about Guilford findings on use of highways by homing pigeons, with statements by Guilford (February 6–24). <http://www.rin.org.uk/>
30. Bramanti, M., Dall'Antonia, L., and Papi, F. (1988). A new technique to monitor the flight paths of birds. *J. Exp. Biol.* 134, 467–472.
31. Dall'Antonia, P., Dall'Antonia, L., Ribolini, A., Ioalè, P., and Benvenuti, S. (1999). Pigeon homing: site simulation experiments with bird-borne direction recorders. *Behav. Proc.* 44.
32. Bonadonna, F., Holland, R., Dall'Antonia, L., Guilford, T., and Benvenuti, S. (2000). Tracking clock-shifted homing pigeons from familiar release sites. *J. Exp. Biol.* 203, 207–212.
33. Bürgi, C., and Werffeli, S. (1999). GPS-system zur Aufzeichnung des Flugweges bei Brieftauben. (Zürich, Switzerland: Swiss Federal Institute of Technology, Institute for Electronics).
34. Steiner, I., Bürgi, C., Werffeli, S., Dell'Omo, G., Valenti, P., Tröster, G., Wolfer, D.P., and Lipp, H.-P. (2000). A GPS logger and software for analysis of homing in pigeons and small mammals. *Physiol. Behav.* 71, 589–596.
35. Biro, D., Guilford, T., Dell'Omo, G., and Lipp, H.-P. (2002). How the viewing of familiar landscapes prior to release allows pigeons to home faster: evidence from GPS tracking. *J. Exp. Biol.* 205, 3833–3844.
36. Manly, B.F.J. (1998). *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*, Second Edition. (London: Chapman and Hall).
37. Schmidt-Koenig, K. (1964). Initial orientation and distance of displacement in pigeon homing. *Nature* 207, 638.
38. Poucet, B. (1993). Spatial cognitive maps in animals: new hypotheses on their structure and neural mechanisms. *Psychol. Rev.* 100, 163–182.
39. O'Keefe, J., and Nadel, L. (1978). *The Hippocampus as a Cognitive Map*. (Oxford, UK: Clarendon Press).
40. Lipp, H.-P., and Wolfer, D.P. (1998). Genetically modified mice and cognition. *Curr. Opin. Neurobiol.* 8, 272–280.
41. Walcott, C. (1996). Pigeon homing: observations, experiments and confusions. *J. Exp. Biol.* 199, 21–27.
42. Renaudineau, S. (2003). *Latéralisation hémisphérique et perception des anomalies géomagnétiques chez le pigeon voyageur Columba Livia*. DEA thesis. (Toulouse, France: Université de Toulouse).
43. Schweizerische Armee. (1985). *Behelf für den Brieftaubensoldat* (Bern, Switzerland: EDMZ)